

Einführung in das Studium

der

Bakteriologie

mit besonderer Berücksichtigung

der

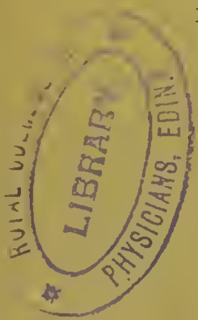
mikroskopischen Technik.

Für Aerzte und Studirende

bearbeitet von

Dr. med. Carl Günther,

Privatdocent an der Universität, Assistent am Hygienischen Institut zu Berlin.



Dritte, vermehrte und verbesserte Auflage.

Mit 72 nach eigenen Präparaten vom Verfasser hergestellten Photogrammen.

LEIPZIG.

Verlag von Georg Thieme.

1893.

Druck von Fischer & Wittig in Leipzig.

Vorwort zur ersten Auflage.

Mit der Herausgabe des nachfolgenden Buches verbindet der Verfasser die Absicht, dem Mediciner, und zwar dem Studirenden ebenso wie dem Arzte, eine kurzgefasste, das Wesentliche vollständig bringende Einführung in das praktische Studium der Bakterienwissenschaft zu geben; der Wissenschaft, mit welcher fast jeder einzelne Zweig der Medicin mehr oder weniger nahe Berührungspunkte besitzt, und deren Bedeutung für die Medicin von Tag zu Tag augenfälliger wird.

Die Erfahrung lehrt, wie viel Mühe dem Anfänger speciell der Gebrauch des Mikroskopes, und zwar gerade die elementare, manuelle Technik, macht. Dieser Punkt hat in dem Buche ganz besondere Berücksichtigung gefunden, und der Verfasser glaubt damit in der That einem bestehenden Bedürfnisse entsprochen zu haben.

Die dem Buche beigegebenen Photogramme dürften zum Verständnisse des Gegenstandes an vielen Stellen wesentlich beitragen und vielleicht auch Manchem bei der Beurtheilung und Deutung seiner eigenen Untersuchungsobjecte einen Anhalt gewähren. Die Photogramme sind aus einer grösseren Sammlung von Aufnahmen ausgewählt und zusammengestellt, die im Laufe der letzten Jahre entstanden sind.

Bei der Abfassung des Buches habe ich ausser den unter dem Texte citirten Originalarbeiten die Werke Robert Koch's und die bekannten Lehrbücher von de Bary, von Flügge, von Baumgarten, von C. Fraenkel, von Hueppe vielfach benutzt.

Berlin, im Juli 1890.

Der Verfasser.

Vorwort zur zweiten Auflage.

Bei der Bearbeitung der vorliegenden zweiten Auflage waren die leitenden Gesichtspunkte dieselben wie bei der Abfassung der ersten Auflage.

Der Verfasser hat es sich angelegen sein lassen, das Buch einer sorgfältigen Durchsicht zu unterziehen. Fast auf jeder Seite des Textes finden sich Abweichungen von der ursprünglichen Fassung, Ergänzungen, Verbesserungen. Einzelne Abschnitte sind auch mehr oder weniger umgearbeitet worden. Der Umfang des Textes hat sich so um nahezu zwei Druckbogen erweitert.

Eine wesentliche Verbesserung haben die dem Buche beigegebenen photographischen Tafeln erfahren. Von den 60 Aufnahmen der ersten Auflage sind 7 weggelassen und dafür 19 zugefügt worden, so dass der gegenwärtigen Auflage im Ganzen 72 Photogramme beigegeben werden.

Berlin, im März 1891.

Der Verfasser.

Vorwort zur dritten Auflage.

Die grossen und mannichfaltigen Fortschritte der letzten Jahre auf bakteriologischem Gebiete haben eine gründliche Umarbeitung mehrerer Abschnitte des Buches nothwendig gemacht. Ausserdem hat der Verfasser bei sorgfältiger Durchsicht des Textes Veranlassung gefunden, eine grosse Reihe mehr oder weniger wichtiger Ergänzungen und Verbesserungen vorzunehmen.

So erscheint die gegenwärtige dritte Auflage gegen die vorige um mehr als sechs Druckbogen erweitert.

Die photographischen Tafeln sind gründlich revidirt worden. Von den 72 Aufnahmen der zweiten Auflage habe ich 28 weggelassen und dafür 28 neue, zweckentsprechendere gegeben.

Berlin, im August 1893.

Der Verfasser.

Inhalts-Uebersicht.

Einleitung.

Unter der Bezeichnung „Bakterien“ fasst man eine Gruppe kleinster einzelliger organischer Wesen zusammen, welche, ihrer grossen Mehrzahl nach, in physiologischer Beziehung den Pilzen nahe stehen und sich durch Theilung des Einzelindividuums in zwei Individuen, durch Spaltung, vermehren. Man spricht deshalb auch von Spaltpilzen, Schizomyceten, und gebraucht diese Ausdrücke synonym mit dem Ausdrucke Bakterien. Auch die Bezeichnungen Mikroorganismen, Mikrobien, sind, im engeren Sinne verstanden, für diese Gebilde vielfach in Gebrauch. Die ausserordentliche Verbreitung derselben in der Natur hat die Aufmerksamkeit der Forscher schon frühzeitig auf sie gelenkt. Der Erste, welcher die uns geläufigen Bakterienformen gesehen und abgebildet hat, war Leeuwenhoek in Delft (Holland) 1683. Der geniale Beobachter sah diese „Thierchen“ mit Hülfe stark vergrössernder einfacher Linsen, die er sich selbst geschliffen hatte, in seinem Zahnbelage und in anderen Flüssigkeiten. Seit jener Zeit und dann namentlich seit den dreissiger Jahren unseres Jahrhunderts, nachdem das Mikroskop gewaltige Verbesserungen erfahren hatte, hat man den kleinsten Lebewesen die Aufmerksamkeit zugewendet.[1]

Aber erst die letzten Jahrzehnte sind es gewesen, welche ein fruchtbringendes Studium dieser Gebilde in grösserer Ausdehnung ermöglicht haben; erst seit wenigen Jahren können wir von einer bakteriologischen „Wissenschaft“ sprechen. Um das recht zu verstehen, müssen wir uns den jetzigen und den früheren Zustand vergegenwärtigen. Jeder, nicht bloss der Arzt, sondern jeder Laie, spricht jetzt von Tuberkelbacillen, von Milzbrandbacillen. In diesen

[1]) Bezüglich der Geschichte der Bakterienlehre verweise ich auf das ausgezeichnete Werk Fr. Loeffler's: Vorlesungen über die geschichtliche Entwickelung der Lehre von den Bakterien. I. Theil. Bis zum Jahre 1878. Leipzig 1887.

Worten liegt ohne Weiteres die Ueberzeugung, dass damit von einander verschiedene Bacillenarten gemeint seien, dass der Tuberkelbacillus seine specifischen Eigenschaften habe, und dass diese von den specifischen Eigenschaften des Milzbrandbacillus verschieden seien; es liegt darin die Ueberzeugung, dass das Gebiet der kleinsten Organismen ebenso aus einzelnen, je durch charakteristische constante Merkmale gekennzeichneten Species zusammengesetzt ist, wie das in allen übrigen Abtheilungen der lebenden Natur der Fall ist. Die Erkenntniss dieser so einfach, so selbstverständlich erscheinenden Thatsache hat aber erst errungen werden müssen. Wenn man daran denkt, dass kaum drei Jahrzehnte uns von dem Zeitpunkte trennen, wo ernste wissenschaftliche Männer eine Entstehung der Bakterienvegetationen in unseren Gefässen durch Urzeugung, durch Generatio aequivoca, noch für möglich hielten, wo es erst bewiesen werden musste, dass ohne das Vorhandensein von entwickelungsfähigen Keimen Bakterienvegetationen nie auftreten, wenn wir dies bedenken, so wird es uns nicht Wunder nehmen, dass noch vor wenigen Jahren von mehreren berühmten Seiten[1]) auf Grund experimenteller Untersuchungen die Existenz verschiedener Species bei den Bakterien direkt in Abrede gestellt resp. die Abgrenzung derselben in einzelne Species nicht für zwingend erachtet wurde. Dass dieses möglich war, erklärt sich aus folgendem: Man hatte zwar optische Hülfsmittel, die Bakterien zu sehen; man kannte die Formen, unter denen sie auftreten, sehr gut, man verstand aber nicht, aus einem Bakteriengemenge das einzelne Individuum, die einzelne Zelle herauszunehmen und für sich, isolirt, in ihrer Weiterentwickelung und in ihrem gesammten Verhalten zu studiren.

Dem genialen Blicke Robert Koch's war es vorbehalten, die Schwierigkeiten in diesem Punkte zu beseitigen. Durch Einführung einer neuen, überaus einfachen Methodik gelang es Koch, die einzelne Bakterienzelle zu isoliren und das Verhalten der isolirten Bakterienzelle unter den verschiedensten äusseren Bedingungen weiter zu verfolgen. Hierbei wurde sofort die Erkenntniss gewonnen, dass unter gleichen Bedingungen nicht alle Bakterienzellen sich gleich verhalten, sondern dass es sich bei den Bakterien um eine grosse Reihe von einander verschiedener Arten handelt, deren jede durch ein ihr eigenthümliches, specifisches Verhalten charakterisirt ist. Diese Erkenntniss

---

[1]) cf. Th. Billroth, Untersuchungen über die Vegetationsformen von Coccobacteria septica etc. Berlin 1874. — v. Nägeli, Die niederen Pilze in ihren Beziehungen zu den Infektionskrankheiten etc. München 1877.

ist der Grundstein, auf dem allein sich eine wissenschaftliche Erforschung des Gebietes aufbauen konnte. Nur die Isolirung der einzelnen Art ermöglichte es, ihre Eigenschaften festzustellen, ihre Lebensbedingungen, ihre Lebensäusserungen kennen zu lernen.

Die glänzenden Entdeckungen, welche dieser erste Schritt aus dem Dunkel in das Helle zur unmittelbaren Folge hatte, namentlich die Entdeckungen auf medicinischem Gebiete, haben das allgemeine Interesse der Gebildeten der Bakteriologie zugewandt. Für das erspriessliche Wirken des modernen Arztes aber ist es eine conditio sine qua non geworden, sowohl sich mit den Lebenseigenschaften der Bakterien im Allgemeinen vertraut zu machen, wie auch die speciellen Bakterienarten, die bei der Entstehung von Krankheiten eine Rolle spielen, des Näheren kennen zu lernen. Denn auf der ersteren Kenntniss beruhen die wichtigsten Theile unserer modernen Hygiene im Allgemeinen, auf ihr beruhen Desinfection und Antiseptik, beruht die chirurgische Aseptik mit ihren glänzenden Resultaten; die Kenntniss der speciellen Lebenseigenschaften der Krankheitserreger aber weist uns allein mit Sicherheit den Weg, den eine rationelle Prophylaxis gegen die einzelnen Seuchen zu beschreiten hat.

Mit diesen Punkten ist jedoch der praktische Nutzen der Bakteriologie nicht erschöpft. Die Entdeckungen der letzten Jahre weisen mit Sicherheit darauf hin, dass die Bakterienwissenschaft berufen ist, auch für die Heilkunde im engeren Sinne, für die Therapie, von grösster Bedeutung zu werden.

Die folgenden Blätter stellen sich die Aufgabe, den medicinischen Leser in das Gebiet der modernen Bakterienwissenschaft, soweit deren Kenntniss für ihn ein unumgängliches Bedürfniss ist, einzuführen; dem Bedürfnisse des Arztes entsprechend soll die mikroskopische Technik hierbei besonders berücksichtigt werden. Wir werden uns zunächst mit der allgemeinen Morphologie und Systematik der Bakterien, mit der allgemeinen Betrachtung ihrer Lebensbedingungen und Lebensäusserungen zu beschäftigen haben, um uns dann der allgemeinen Untersuchungsmethodik zuzuwenden. Dann werden wir das Gebiet der krankheitserregenden Bakterien im Allgemeinen und im Anschlusse daran die wichtigeren einzelnen pathogenen Bakterienarten zu betrachten haben; anhangsweise sollen auch die pathogenen Fadenpilze und die pathogenen Protozoën Erwähnung finden. Endlich werden wir auch einige der bekannteren nicht pathogenen Arten behandeln.

A. Allgemeines.

Morphologie, Systematik, Lebensbedingungen und Lebensäusserungen der Bakterien.

Beobachtungs- und Züchtungsmethoden.

I.

Allgemeine Morphologie und Systematik der Bakterien.



Ein natürliches System der Bakterien aufzustellen ist bisher nicht gelungen. Diese Aufgabe bleibt einer späteren Zeit vorbehalten. Ein natürliches System ordnet die einzelnen Species nach den natürlichen Verwandtschaften, wie sie sich aus der vergleichenden Betrachtung sämmtlicher Eigenschaften der einzelnen Arten ergeben; ein künstliches System greift ein einzelnes in die Augen fallendes Merkmal heraus und gruppirt danach. Da nun die Bakterienkunde eine noch junge Wissenschaft ist, und da demgemäss die Eigenschaften auch der wichtigsten Bakterienarten bis jetzt nur unvollkommen bekannt sind, so müssen wir uns vor der Hand noch mit einer künstlichen Classificirung begnügen. Ferdinand Cohn griff, als er 1872 sein System[1]) der Bakterien aufstellte, das Merkmal der Form heraus; nach der Form der Einzelzellen und nach der Form der Verbände, in denen diese Einzelzellen auftreten, theilte er die Bakterien ein. Diese Art der Eintheilung ist auch heute noch die allgemein gebräuchliche. Wir unterscheiden danach drei grosse Gruppen: Kugelbakterien (Mikrococcen, Coccen), Stäbchenbakterien (Bacillen) und Schraubenbakterien (Spirillen).

Die Kugelbakterien, Mikrococcen, stellen in einem gewissen Entwickelungsstadium (d. h. unmittelbar nach vollendeter Theilung der Mutterzelle) kugelrunde Zellen dar; die Stäbchenbakterien, Bacillen, sind Cylinder von kreisförmigem Querschnitt, deren Längsachse den Querdurchmesser an Ausdehnung übertrifft; die Schraubenbakterien, Spirillen, sind schraubenartig, korkzieherförmig gewundene Gebilde. Nach de Bary[2]) lassen sich die drei Formtypen

---

[1]) Beiträge zur Biologie der Pflanzen. Bd. I.

[2]) A. de Bary, Vorlesungen über Bakterien. 2. Aufl. 1877. p. 8.

am besten veranschaulichen durch bezw. eine Billardkugel, einen Bleistift und einen Korkzieher. Auf Taf. I, Fig. 1 und 2, sind Bakteriengemische dargestellt; das eine zeigt Bakterien aus der Mundhöhle, das andere Bakterien in faulendem Fleischwasser. Man findet hier Angehörige jedes der drei Formtypen durcheinander gemengt. Es fällt an diesen Bildern (die ebenso wie die folgenden bei einer und derselben. nämlich 1000fachen Vergrösserung hergestellt sind und deshalb eine unmittelbare Grössenvergleichung der Bakterien zulassen) ohne Weiteres auf, dass es lange und kurze, dicke und schmale Bakterien giebt. Im Allgemeinen kann man sagen, dass die Dicke der Bakterienzellen sich nach Zehntausendsteln eines Millimeters bemisst, die Länge nach Tausendsteln. Es giebt aber nicht seltene Ausnahmen, in denen die Dicke einer Bakterienzelle $^1/_{1000}$ mm, 1 μ (Mikron), überschreitet.[1]) Beispiele davon sehen wir auf Fig. 2; die Dicke der einzelnen Glieder der vom linken zum oberen Rande der Figur ziehenden Bacillenkette beträgt auf dem Bilde 1,3—1,5 mm, d. h. in dem Präparate selbst 1,3—1,5 μ. Der Dickendurchmesser der Bakterien bleibt aber stets erheblich zurück hinter demjenigen der Zellen von Sprosspilzen (Hefen) und von Schimmelpilzen (Fadenpilzen), die wir bei bakteriologischen Untersuchungen nicht selten zu Gesicht bekommen. Auf Fig. 6 (Taf. I) sehen wir (in dem rechten unteren Quadranten dieser Figur) Gebilde, die man ihrer Form nach für Bacillen halten könnte. Betrachten wir jedoch die anderen Theile dieser Figur, so finden wir, dass es sich um einen zweigbildenden Organismus, um einen Fadenpilz handelt, der an einzelnen Stellen in kürzere, bacillenartig geformte Theile auseinander gefallen ist. Die Dicke der Zellen beträgt auf dem (1000fach vergrösserten) Photogramm 2—5 mm, d. h. in Wirklichkeit 2—5 μ. Ein derartiger Dickendurchmesser kommt bei Bakterien nicht vor. Ein anderes Beispiel eines Fadenpilzes zeigt Taf. XII, Fig. 72. Hier ist der Herpes tonsurans-Pilz bei 240facher Vergrösserung dargestellt. Die Zellen sind im Bilde 1,3—1,8 mm, d. h. in Wirklichkeit 5,4—7,5 μ dick. Auf Taf. II, Fig. 7, ist ein (in Sprossbildung begriffener) Sprosspilz (Hefepilz) dargestellt, dessen Zellen etwa 6 μ dick sind. Die Dickenverhältnisse der Zellen lassen die Bakterien von den eigentlichen Pilzen jedesmal mit Leichtigkeit sofort unterscheiden.

[1]) Unter dem Mikroskope misst man die Grösse der Bakterien ebenso wie die irgend welcher anderen Objecte bekanntlich so, dass man die in Frage kommenden Ausdehnungen des Bildes vergleicht mit den Bildausdehnungen eines unter denselben Bedingungen mikroskopisch betrachteten Objectes von bekannter Grösse (Objectmikromoter).

Die Bakterienzelle setzt sich zusammen aus einem (nach neueren Untersuchungen mit hoher Wahrscheinlichkeit als Kern aufzufassenden) Protoplasmakörper, welcher von einer Membran (Plasmahülle) umschlossen ist. Das Bakterien-Protoplasma färbt sich wie andere protoplasmatische Körper durch Jod gelb bis braun, es lässt sich ebenso wie jene mit Carmin und mit Anilinfarben tingiren. Die Membran, ihrer chemischen Natur nach nicht bei allen Arten gleich[1]), geht nach aussen hin unmittelbar über in eine schleimige, in Wasser mehr oder weniger quellbare Hülle. Während diese meist eine nur geringe Ausdehnung besitzt und uns nicht besonders auffällt, erreicht sie in anderen Fällen eine im Vergleich zu dem Protoplasmakörper sehr erhebliche Ausdehnung. Man spricht dann von Kapselbakterien (Gloeococcus). Ein derartiges Beispiel zeigt Taf. XII, Fig. 69. Wir sehen hier den Friedländer'schen sogenannten Bacillus pneumoniae, dessen Protoplasmakörper durch Gentianaviolett intensiv dunkel tingirt ist, während die Hülle oder Kapsel sich als weniger intensiv gefärbte Masse kenntlich macht. Der Protoplasmakörper der Bakterien ist bei weitaus den meisten Arten farblos, chlorophylllos. Die Bakterien stellen sich in diesem Punkte und den daraus resultirenden physiologischen Eigenschaften den Pilzen nahe. Nur bei einzelnen wenigen Bakterienarten sind dem Chlorophyll nahestehende Farbstoffe (z. B. das als echtes Chromophyll aufzufassende sogenannte Bacteriopurpurin) nachgewiesen. Hier weichen demgemäss auch die physiologischen Eigenschaften von den gewöhnlich zu beobachtenden ab. Auch können sich mehrere derartige Farbstoffe gleichzeitig neben einander vorfinden (Bütschli). Handelt es sich hier um Farbstoffe, mit deren Anwesenheit wichtige physiologische Functionen verbunden sind, so werden andererseits von sehr vielen (chromogenen) Bakterienarten Farbstoffe producirt, die wahrscheinlich nur als Stoffwechselproducte aufzufassen sind. Die hierhergehörigen Arten fallen in ihren Culturen ohne Weiteres durch die meist lebhafte Färbung derselben auf. Wo bei diesen Arten der Farbstoff ausgeschieden wird, ob in dem Protoplasmakörper oder in der Membran oder ganz ausserhalb der Zelle, muss für jeden einzelnen Fall festgestellt werden und ist meist recht schwer zu entscheiden. Das Bakterienprotoplasma zeigt bei einer Reihe von Arten Stärke- (oder richtiger Granulose-) Gehalt; mit wässeriger Jodlösung färbt es sich hier dunkel indigoblau. Bei einzelnen Arten finden sich (krystallinische)

[1]) Die Membran wird meist aus einer celluloseartigen Substanz gebildet: bei einzelnen Arten jedoch besteht sie — wahrscheinlich — aus einem eiweissartigen Körper.

stark lichtbrechende Schwefelkörnchen in dem Protoplasma vertheilt (Schwefelbakterien); andere zeigen Eisenoxyd in ihrer Hülle eingelagert (Eisenbacterien).

Die Bakterienzelle als Ganzes ist bei manchen Arten gewiss ein relativ starres Gebilde; bei anderen Arten ist dies jedoch sicher nicht der Fall. Es ist mir öfters begegnet, dass ich bewegliche Bacillen, welche in der Flüssigkeit als gerade Stäbe umherschwammen, sich durch enge Hindernisse hindurchdrängen sah. Hierbei verengerten sich die verschiedenen Stellen des Bakterienleibes der Reihe nach, dem Hindernisse entsprechend, und in schlangenartigen Windungen entwand sich die Zelle dem Engpasse, auf der anderen Seite als gerades Stäbchen weiterschwimmend.

Bei Zutritt von bestimmten Flüssigkeiten zu Bakterienzellen beobachtet man, wie das bei den Zellen höherer Pflanzen längst bekannt ist, einen eigenthümlichen, als „Plasmolyse" bezeichneten Vorgang. Der Protoplasmakörper, welcher vorher der Membran dicht anlag, zieht sich von der Membran zurück und contrahirt sich nach dem Centrum hin. Hier nimmt er je nach der Gestalt und dem Bau der Zelle verschiedene Gestalt an. Nur lebende Zellen lassen sich „plasmolysiren". Am besten eignen sich $^{3}/_{4}$ bis 10 proc. Kochsalzlösungen. Bringt man die plasmolysirte Zelle in Wasser zurück, so tritt wieder die ursprüngliche Gestalt ein.[1])

Die Bakterien vermehren sich (abgesehen von der nur unter besonderen Bedingungen auftretenden sogenannten Sporenbildung) durch Theilung, durch Spaltung der einzelnen Zelle in zwei Zellen. Dies geht so vor sich, dass die Zelle in die Länge wächst, und dass sie sich dabei in der Mitte der Quere nach einschnürt. Ist die Einschnürung vollendet, so ist damit die ursprüngliche Zelle in zwei Zellen zerfallen, deren jede ebenso aussieht wie die Mutterzelle vor dem Beginne des Theilungsvorganges. Tafel II, Fig. 12, zeigt grosse Mikrococcen, die z. Th. in Theilung begriffen sind. Man sieht da ausser rein kugelförmig gestalteten Zellen solche, die in die Länge gezogen und deutlich eingeschnürt sind (Biscuit- oder Semmelform). Aber ausserdem bemerkt man auch vereinzelte, zwar von der Kugelform abweichende, längliche Gebilde, die aber noch keine deutliche Einschnürung zeigen. Diese Gebilde stellen das erste Stadium des Theilungsvorganges dar; sie zeigen zugleich, dass ein Mikrococcus nicht

---

[1]) cf. A. Fischer, Ber. d. K. Sächs. Ges. d. Wissensch. Math.-phys. Classe 1891. — Durch 10proc. Milchsäurelösung lassen sich die plasmolytischen Erscheinungsformen fixiren, so dass die Zellen resp. der Protoplasmakörper nachher in dieser Form gefärbt werden können.

unter allen Umständen rein kugelförmig aussieht. Nur ein bestimmtes Stadium, nämlich das der eben vollendeten Theilung, bringt die Kugelgestalt rein zum Ausdruck, und an dieses Stadium muss man sich halten, wenn es sich im gegebenen Falle darum handelt, zu entscheiden, ob man eine bestimmte Bakterienart als Mikrococcus, d. h. Kugelbacterium, oder als Bacillus, d. h. Stäbchenbacterium, bezeichnen soll. Die Figuren 3—5, 8, 9, 11—14 (Taf. I—III) zeigen eine Reihe von Bacillen- und von Mikrococcenformen; auf jedem Bilde findet man eine Anzahl von Zellen, welche in Theilung begriffen sind.

Die Richtung, in welcher die Verlängerung der sich zur Theilung anschickenden Zelle geschieht, entspricht bei den Bacillen und Spirillen der Längsrichtung des Individuums; bei den Mikrococcen entspricht sie in der Regel der Richtung, in welcher die Verlängerung bei dem vorhergehenden Theilungsprocesse erfolgte. Dies letztere gilt jedoch nicht ohne Ausnahme. Es giebt Mikrococcenarten, bei denen nach erfolgter Theilung der Zelle die beiden Tochtermikrococcen sich in einer Richtung theilen, die senkrecht auf der Richtung der ersten Theilung steht; es entstehen dann vier im Quadrat gruppirte Mikrococcen. Ein Beispiel hierfür zeigt Taf. XII, Fig. 67. Man bezeichnet solche Formen als M e r i s m o p e d i a (d. h. Tafelcoccen) oder als T e t r a g e n u s. Haben wir hier eine Theilung nach zwei Richtungen des Raumes vor uns, so giebt es andererseits Mikrococcenarten, bei denen die Theilung in allen drei Richtungen des Raumes vor sich geht. Es entstehen so packetförmige Zusammenlagerungen von je acht Coccen. Solche Arten bezeichnet man als S a r c i n a (cf. Taf. III, Fig. 15).

Sehen wir von diesen Ausnahmen ab, so findet bei den Bakterien die Theilung stets in der Richtung statt, in der die vorhergehende Theilung stattfand. Ist die Theilung vollendet, so können die Tochterzellen aneinander hängen bleiben und so k e t t e n a r t i g e Verbände bilden, die zunächst aus zwei, dann aus vier, acht u. s. w. Individuen bestehen. Taf. I, Fig. 4, zeigt solche Kettenbildung bei einer Art grosser und dicker Bacillen („Wurzelbacillen"); Taf. VI, Fig. 31, zeigt dieselbe Erscheinung bei den Milzbrandbacillen. Auf Taf. III, Fig. 14, sind Mikrococcenketten zu sehen. Mikrococcenarten, welche eine derartige kettenförmige Anordnung der Individuen zeigen, nennt man S t r e p t o c o c c u s (στρεπτα = Halskette).[1] Handelt es sich hier um

---

[1] Synonym mit „Streptococcus" wird, jedoch selten, das Wort „T o r u l a" gebraucht. Diese Bedeutung des Wortes T o r u l a ist nicht die gewöhnliche; gewöhnlich bezeichnet „Torula" Hefe.

Verbände, die gewöhnlich aus einer grösseren Reihe von Einzelzellen zusammengesetzt auftreten, so giebt es andererseits Bakterienarten (besonders Mikrococcen), deren Zellen gewöhnlich zu zweien vereinigt, paarweise auftreten. Man spricht dann von Diplococcen. Beispiele derart zeigen Taf. XI, Fig. 65, und Taf. XII, Fig 68. Bleiben Mikrococcen nach der Theilung nicht aneinander hängen, fallen sie auseinander, so kommen keine Kettenverbände zu Stande, sondern die Einzelzellen lagern sich, wie es der Zufall bringt, nebeneinander; solche Arten bezeichnet man als Staphylococcen (σταφυλη = Traube) nach den unter dem Mikroskop oft weintraubenartig erscheinenden Bildern, die derartig gelagerte Mikrococcen darbieten (cf. Taf. III, Fig. 13). Bei den Bacillenarten spricht man je nach der Gestalt der Zellen resp. nach dem Verhältnisse ihres Längsdurchmessers zum Querdurchmesser von plumpen, von schlanken Bacillen, von Kurzstäbchen, von Langstäbchen (cf. Taf. I, Fig. 3 und 5; Taf. II, Fig. 8 und 9). Es ist hier zu bemerken, dass von einigen Autoren synonym mit dem Begriffe Kurzstäbchen der Begriff „Bacterium“ gebraucht wurde und noch wird. Gegen diesen Gebrauch ist nichts einzuwenden, wenn man sich nur stets dabei denkt, dass das Wort „Bacterium“ hier im engeren Sinne angewendet wird, dass man eine bestimmte Form damit meint, während man unter Bakterien im Allgemeinen die ganze grosse, oben näher definirte Gruppe niederster Pflanzen versteht, die die verschiedensten Coccen-, Bacillen- und Spirillenformen umfasst.

Es giebt Bacillenarten, deren Einzelindividuen sich nach der Theilung voneinander trennen, andere, deren Glieder nach der Theilung kettenförmig aneinander hängen bleiben. Bezüglich dieser Gruppirungsverhältnisse kommt es nun häufig sehr auf die äusseren Bedingungen an, unter denen das Wachsthum erfolgt. Betrachten wir beispielsweise den Milzbrandbacillus. Innerhalb des inficirten Thierkörpers (cf. Taf. V, Fig. 25—27) treffen wir die Stäbchen entweder einzeln oder zu kleinen Kettenverbänden angeordnet. In der künstlichen Cultur hingegen (cf. Taf. V, Fig. 29 und 30; Taf. VI, Fig. 31, 34, 35) finden wir den Milzbrandbacillus stets zu langen, manchmal gewiss Tausende von Gliedern umfassenden Ketten oder Fäden ausgewachsen. Derartige Beobachtungen kann man bei vielen Bacillenarten machen. Es giebt nun aber Bacillenarten, die stets in längeren Fäden verbunden (auch „Scheinfäden“ genannt) auftreten. Hierhin gehören die in der Mundhöhle vegetirenden, als Mycothrix, Leptothrix, Streptothrix bezeichneten Bacillenarten (cf. Taf. IV, Fig. 19).

Was die Abtheilung der Spirillen (Beispiele auf Taf. I, Fig. 1

und 2; Taf. III, Fig. 16; Taf. XII, Fig. 70) angeht, so ist zu bemerken, dass auch die als „Kommabacillen" bezeichneten Gebilde in diese Abtheilung gerechnet werden müssen. Die Kommabacillen (Beispiele auf Taf. X) sind gekrümmte Stäbchen; die Krümmung liegt jedoch nicht in einer Ebene, sondern sie ist thatsächlich ein Bruchtheil einer Schrauben- oder Korkzieherwindung. Unter gewissen Umständen (in älteren Culturen) bleiben die Kommabacillen nach der Theilung aneinander hängen und bilden dann wirkliche Spirillen. Ein Beispiel sieht man auf Taf. X. Hier zeigt Fig. 55 die gewöhnliche kommaförmige Erscheinungsweise der Cholerabacillen, Fig. 56 zeigt dieselben Organismen zu Spirillen ausgewachsen. Für die Kommaorganismen ist auch der Ausdruck „Vibrionen" in Gebrauch.

Bezüglich der Anordnung der Bakterienverbände ist im Allgemeinen noch zu bemerken, dass man, besonders in wässerigen Flüssigkeiten, in welchen Bakterien wuchern, die letzteren häufig in voluminösen, relativ zähen, schleimigen Verbänden angeordnet findet. Hierher gehören z. B. die sogenannten Kahmhäute, welche man auf faulenden Infusen etc. häufig antrifft. Mikroskopisch constatirt man in solchen Fällen die Gallerthüllen der Einzelzellen miteinander verquollen, die Protoplasmakörper der Zellen durch die Gallerthüllen auseinander gehalten und in meist regelmässiger Anordnung in der Gallertmasse vertheilt. Solche Bakterienmassen bezeichnet man als Zoogloea oder Palmella. Ein Beispiel zeigt Taf. II, Fig. 10.

Beobachtet man Bakterien im lebenden Zustande in der Flüssigkeit, in der sie gewachsen sind, oder in einem anderen flüssigen Medium, welches ihre Weiterexistenz zulässt, so bemerkt man, dass die Zellen sich bewegen. Die Bewegungen, die man beobachtet, sind aber zweierlei verschiedener Art. Erstens zeigen die Bakterienzellen die Brown'sche Bewegung oder Molekularbewegung, wie sie kleinsten, in Flüssigkeiten suspendirten Körperchen stets zukommt. Die Zellen tanzen hin und her, auf und ab; die Bewegung jedes einzelnen Individuums steht in Beziehung zu der des Nachbars. Ausserdem kommt aber eine Eigenbewegung bei den Bakterien vor. Die Eigenbewegung ist nicht allen Arten eigenthümlich, sondern auf bestimmte Arten beschränkt. Sie findet sich zunächst ganz allgemein, ohne Ausnahme, bei den Spirillen und Kommabacillen (Vibrionen). Ferner findet sie sich bei einer grossen Reihe von Bacillenarten, während die übrigen Bacillenarten ohne Eigenbewegung sind. Bei den Mikrococcen kennt man Eigenbewegung nur bei wenigen Arten.[1])

[1]) Die erste eigenbewegliche Mikrococcenart, deren Reinzüchtung gelang, und

Um eine beobachtete Bewegung von Bakterien als Eigenbewegung anzusprechen, ist es nöthig, den Nachweis zu führen, dass das sich bewegende Individuum mit den Bewegungen der Nachbarn in keinem Zusammenhange stehende Ortsveränderungen ausführt. Dies ist manchmal gar nicht so sehr leicht zu entscheiden. Die Eigenbewegung kann zwar eine sehr lebhafte sein. Besonders bei Spirillen und Vibrionen, aber auch bei Bacillen, findet man nicht selten so lebhafte Bewegungen, dass es recht schwer wird, sich ohne Weiteres ein deutliches Bild der Gestalt der Zellen zu verschaffen; die Schrauben oder Stäbchen schiessen pfeilschnell durch das Gesichtsfeld, um nur für kurze Augenblicke hier oder da auszuruhen. Auf der anderen Seite aber kommen (bei Bacillen) so matte und träge Eigenbewegungen vor, dass es oft nicht leicht wird, dieselben von Molekularbewegungen zu unterscheiden.

Die Eigenbewegung der Bakterienzellen wird (nach Ermittelungen von Koch und von Loeffler) stets durch sogenannte Geisselfäden vermittelt, feinste fadenförmige Gebilde, welche meist an den Enden der Zelle angebracht sind und durch die von ihnen ausgeführten flimmernden Bewegungen Ortsveränderungen der Zelle veranlassen. Spirillen und Bacillen mit Geisselfäden zeigt Taf. III, Fig. 16: kurze Bacillen sieht man auf Fig. 18 derselben Tafel. Taf. X, Fig. 57, zeigt die Kommabacillen der Cholera asiatica mit ihren Geisselfäden. Auf Taf. III, Fig. 17, sieht man an den Enden grosser Bacillen regelrechte Büschel von Geisselfäden angebracht, während sonst allerdings meist nur ein einzelner Geisselfaden an dem Ende der Bakterienzelle angebracht ist. Die Länge und Gestalt der Geisseln sind bei den verschiedenen Bakterienarten verschieden. Die Anheftungsstelle der Geisseln liegt, wie wir bereits sagten, meist an dem Ende der Zelle: es sind jedoch eine Reihe von Bacillenarten aufgefunden worden, bei denen jedes Individuum eine ganze (mitunter ausserordentlich grosse) Anzahl von Geisselfäden trägt, die von seinen Seitenwänden ausgehen.[1]) Ein Beispiel hierfür bildet der Typhusbacillus (cf. Taf. VIII, Fig. 45).

Wir hatten oben gesehen, dass die Vermehrung der Bakterien durch Spaltung jeder einzelnen Zelle in zwei Zellen geschieht. Denken wir uns irgend eine Bakterienart unter günstigen äusseren Bedingungen, denken wir uns den Nährboden möglichst günstig zusammengesetzt, die Temperaturverhältnisse günstig, und denken wir diese Bedingungen

---

die genau studirt worden ist, wurde von Ali-Cohen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. Nr. 2) in Trinkwasser aufgefunden („Micrococcus agilis").

[1]) Die erste derartige Beobachtung haben C. Fränkel und R. Pfeiffer (Mikrophot. Atlas der Bakterienkunde. Lief. 5. 1889. Tafel 24) publicirt.

ungeändert in gleicher Weise fortbestehen, so wäre kein Grund einzusehen, weshalb die Bakterien sich nicht in infinitum in gleicher Weise weiter theilen sollten. Nun liegen aber die Verhältnisse in Wirklichkeit nie derartig. Jeder Organismus lebt von gewissen Nährsubstanzen; er verbraucht diese Nährsubstanzen; bei seinem Stoffwechsel bilden sich gewisse Abfallproducte, welche er nicht weiter zu verwenden vermag. Auch der günstigste Nährboden, auf welchem Bakterien wachsen, wird in kürzerer oder weiterer Frist erschöpft an nothwendigen Nahrungsstoffen, er wird ausserdem mehr oder weniger beladen mit Stoffwechselproducten der Bakterien. Höchstens im kreisenden Blute eines inficirten Thieres könnten sich dort vegetirende Bakterien für gewisse Zeit in einem Zustande befinden, der den oben supponirten idealen Verhältnissen ähnlich ist; sie würden jeden Augenblick neue Nahrung erhalten, und ihre Abfallproducte würden ebenso ständig entfernt werden. Gemeinhin aber liegen die Dinge so, dass mit fortschreitendem Bakterienwachsthum der Nährboden sich verschlechtert. Die letzten Consequenzen davon würden die sein, dass die Bakterien auf dem Nährboden nicht mehr zu leben vermögen und zu Grunde gehen, absterben. Das geschieht nun in der That sehr häufig. Wir sehen dann an den Bakterienzellen zunächst sogenannte Absterbeerscheinungen, Involutionserscheinungen auftreten. Die Zellen blähen sich auf, werden voluminöser, Missbildungen, Schnörkelformen der mannichfachsten Gestaltung bilden sich aus, das Protoplasma durchsetzt sich mit „Vacuolen", verliert seine normalen chemischen Eigenschaften (z. B. färbt sich lückenhaft und schlecht mit Anilinfarben), der Contour der Zellen wird undeutlicher; und dann sind die Zellen nicht mehr fähig, sich weiter zu vermehren, selbst wenn sie auf frischen Nährboden übertragen werden: sie sind abgestorben. Involutionsformen bei Milzbrandbacillen zeigt Taf. VI, Fig. 32; auf Taf. X, Fig. 56, sieht man Formen, wie sie bei der beginnenden Involution der Cholerabacillen auftreten.

Unter gewissen Bedingungen giebt aber die Verschlechterung des Nährbodens resp. die Erschöpfung desselben an Nahrungsstoffen Veranlassung zu der Bildung eigenthümlicher Fruchtformen, welche, teleologisch betrachtet, die Bestimmung haben, das Weiterbestehen der Art, solange die ungünstigen äusseren Verhältnisse andauern, zu vermitteln. Es ist dies die Bildung der Sporen (Dauersporen). Die Bildung von Dauersporen kommt fast ausschliesslich bei Bacillen vor; sie ist aber nur einer Anzahl von Bacillenarten eigenthümlich, während sie bei den anderen Bacillenarten fehlt. Sie ist ferner ausnahmsweise beobachtet bei ganz vereinzelten Spirillenarten; sie soll

auch bei Sarcinen [1]) vorkommen können. Die Sporenbildung tritt aber bei den sporenbildenden Arten nicht ohne Weiteres jedesmal ein, wenn der Nährboden sich verschlechtert; es gehören hierzu noch ganz besondere Bedingungen, die für die verschiedenen Arten verschieden sind.

Der Vorgang bei der Sporenbildung ist im Allgemeinen der, dass zunächst eine kleine Stelle des Bacillenleibes anfängt körnig zu werden, dass dann diese körnig gewordene Stelle an Ausdehnung zunimmt, sich durch eine feste, eigene Membran abschliesst gegen das übrige Bacillenprotoplasma, und dass der Inhalt dieser Membran dabei eine homogene Beschaffenheit annimmt. Es findet sich dann an der genannten Stelle ein homogenes, ölartiges, das Licht stark brechendes, bei hoher Einstellung des Mikroskoptubus stark glänzend, bei tiefer Einstellung dunkel erscheinendes, meist länglichrund gestaltetes Körperchen, welches von der erwähnten Membran umschlossen wird. (Vgl. hierzu Taf. VI, Fig. 34: Lebende Milzbrandbacillenfäden mit Sporen.) Vor der Sporenbildung kommen übrigens die eigenbeweglichen Bacillenindividuen stets zur Ruhe. Ist die Spore in der geschilderten Weise fertig gebildet, so beginnt der übrige Bacillenleib zu zerfallen, und die Spore ist dann isolirt; sie bleibt dann unverändert, bis sie nach längerer oder kürzerer Zeit wieder auf einen günstigen Nährboden geräth. Dort keimt dann die Spore zu einem Bacillus aus, welcher sich durch Zweitheilung in der bekannten Weise weiter vermehrt. Die Sporen bezeichnet man als Dauerformen oder reproductive Formen gegenüber den sich zweitheilenden Formen, die man als vegetative oder als Wuchsformen bezeichnet.

Die Auskeimung der Spore, die Sporenkeimung, geht bei den verschiedenen Bacillenarten in verschiedener Weise vor sich. Bei dem Milzbrandbacillus z. B. verlängert sich die Spore in ihrer Längsachse, der Inhalt verliert sein glänzendes Aussehen, die Sporenmembran verwandelt sich ohne Weiteres in die Bacillenmembran, der Bacillus ist fertig. Bei anderen Bacillenarten kommt der Bacillus durch ein Loch in der Membran der Spore aus der letzteren heraus, die Sporenmembran kann dem jungen Bacillus wie eine Kappe aufsitzen etc. [2])

Die Sporenbildung kann in der Mitte des Bacillus auftreten (mittelständige Sporen), oder sie kann an einem Ende des Bacillus auftreten (endständige Sporen). In dem letzteren Falle kommt es dann, wenn die Bacillen einzeln liegen, zur Bildung soge-

---

[1]) G. Hauser, Ueber Lungensarcine. (Sitz.-Ber. Phys.-Med. Soc. Erlangen 1887. [München 1888.] p. 20.)

[2]) Vergl. A. Koch, Bot. Ztg. 1888. No. 18—22.

nannter Köpfchenbakterien, Bacillen mit Köpfchensporen, Trommelschlägerformen. Bei manchen Bacillenarten, welche mittelständige Sporen bilden, kommt es bei der Sporenbildung zu einer dem Sitze der Sporen entsprechenden stärkeren Auftreibung des Stäbchens in der Mitte; sind nun die Enden des Stäbchens zugespitzt, so resultirt eine deutliche Spindelform. Solche Formen bezeichnet man als Clostridium (κλωστηρ = Spindel). Auf Taf. VI, Fig. 34 und 35, sind mittelständige Sporen (Milzbrand), auf Taf. VII, Fig. 39, endständige Sporen (Tetanus) dargestellt. Man sieht auf Fig. 35 und 39 das Bacillenprotoplasma durch die angewandte Anilinfärbung tingirt (dunkel), während die Sporen mehr oder weniger ungefärbt (hell) geblieben sind. Dieselbe Erscheinung sieht man auch an den sporenhaltigen Leptothrixfäden, welche auf Taf. IV, Fig. 19, dargestellt sind. Es hängt dieses differente Verhalten des Bacillenprotoplasma und des Sporenleibes gegen Farbflüssigkeiten auf das Engste zusammen mit der Verschiedenheit der physiologischen Eigenschaften dieser beiden Dinge im Allgemeinen. Die Bacillensporen sind echte Dauerformen. Sie sind durch eine Membran gegen die Aussenwelt abgeschlossen, welche von einer solchen Resistenz gegen äussere Einwirkungen ist, wie man sie sonst in der organischen Natur nicht wieder findet, und die speciell mit der Resistenz des Bacillenkörpers gegen äussere Angriffe gar nicht zu vergleichen ist. So sehen wir auch die Farbflüssigkeit in den Bacillenkörper eindringen, von der Sporenmembran dagegen zurückgehalten werden.

Die besprochene Art der Sporenbildung bezeichnet man als die endogene Sporenbildung, die Sporen als endogene Sporen, die Bakterienarten, bei denen diese Sporenbildung auftritt, als endospore Bakterienarten. Einzelne Autoren, namentlich de Bary und Hüppe, nehmen daneben noch eine andersartige Sporenbildung an: die Arthrosporenbildung (arthrospore Bakterien). Sie kommt nach de Bary allen den Bakterienarten zu, welche nicht endospor sind. Hier sollen einzelne Zellen, die sich zunächst in nichts von ihren Geschwistern unterscheiden, entweder ohne Aenderung der Form, oder nachdem sie sich etwas vergrössert haben und event. etwas derbwandiger geworden sind, ohne Weiteres Sporenqualität annehmen; d. h. diese Zellen dienen, während die übrigen absterben, zum Ausgangspunkte einer späteren neuen Bakterienvegetation. Von einer ähnlichen Resistenz, wie sie die endogenen Sporen gegen äussere Angriffe zeigen, scheint bei den „Arthrosporen" („Gliedersporen") nicht die Rede zu sein. Die „Arthrosporen" können deshalb auch nicht als Dauerformen in dem Sinne der den endogenen Sporen zukommenden Eigenschaften ange-

sehen werden, und die ganze Frage nach den Arthrosporen hat mehr theoretische als praktische Bedeutung. Von Wichtigkeit ist es dagegen stets, zu wissen, ob eine bestimmte Bakterienart wirkliche Dauerformen, d. h. mit besonderer Resistenz ausgestattete Gebilde, zu produciren vermag; diese Eigenschaft aber findet sich nur bei den endosporen Arten.

Die Bakterien, soweit wir deren allgemeine Morphologie bisher betrachtet haben, zeigen in ihren Formverhältnissen die übereinstimmende Eigenthümlichkeit, dass eine jede einzelne Species eine bestimmte, stets wiederkehrende Form der Einzelzelle aufweist. Das ist nicht so zu verstehen, dass man aus einer bestimmten Form des Individuums ohne Weiteres jedesmal auf eine bestimmte Species schliessen kann; es giebt viele Fälle, in denen verschiedene Species dieselbe Form der Einzelzelle zeigen. Aber wir finden, dass bei jeder einzelnen Species die Form der Einzelzelle etwas constant Bleibendes, stets unverändert Wiederkehrendes ist. Handelt es sich um eine Bacillenspecies, bei der das Individuum abgestumpfte Enden hat, so kehren diese abgestumpften Enden bei der weiteren Vermehrung der Art stets unverändert wieder; ein Mikrococcus von bestimmter Grösse bildet bei seiner weiteren Vermehrung stets wieder Mikrococcen derselben Grösse etc. Mit einem Worte: eine jede Bakterienart hat die Eigenschaft der Formconstanz. Oben haben wir schon gesehen, dass während des Theilungsprocesses die Individuen sich verlängern, und dass unter ungünstigen äusseren Verhältnissen sich Formänderungen, sogenannte Involutionsformen, auszubilden vermögen. Die Eigenschaft der Formconstanz gilt also nur für das Stadium der eben abgeschlossenen Theilung und für im Uebrigen normale, günstige äussere Verhältnisse.

Man hat nun, und dieser Standpunkt wird namentlich von Zopf vertreten, gegenüber den Bakterien mit constanter Wuchsform auch sogenannte pleomorphe Bakterienarten statuirt. Hierhin gehören besonders die im Wasser vorkommenden Gattungen Cladothrix, Beggiatoa und Crenothrix. Dieselben treten in Fäden auf, welche in ihrer Dicke z. Th. etwa dicken Bacillenarten entsprechen, z. Th. allerdings eine erheblich grössere Dickenausdehnung besitzen. Cladothrix ist durch Zweigbildung ausgezeichnet, Beggiatoa zeigt Schwefelkörnchen im Protoplasma eingelagert, Crenothrix besitzt eine eisenoxydhaltige Hülle. Alle drei Gattungen zeigen in ihren Fäden einen deutlichen Gegensatz von Basis und Spitze; in den Entwickelungskreislauf aller drei sollen die verschiedensten Formen (Stäbchen, Coccen etc.) gehören. Die Koch'sche Schule rechnet diese Gattungen nicht

zu den Bakterien, sondern zu den niederen Algen.[1] Auf Taf. IV, Fig. 20, findet man eine Cladothrix (Cladothrix dichotoma Cohn?) bei 1000facher Vergrösserung, auf derselben Tafel, Fig. 23, eine Gelatineplattencolonie desselben Organismus bei 100facher Vergrösserung abgebildet.[2] Taf. IV, Fig. 21, zeigt eine Crenothrix[3]) bei 250facher Vergrösserung; die braunen Eisenoxydhydrat-Einlagerungen erscheinen auf dem Photogramm dunkel.

---

[1]) Was speciell Cladothrix angeht, so kann diese zweigbildende Art logischer Weise schon deshalb nicht zu den Bakterien gestellt werden, weil wir Bakterien als „Spaltpilze", als durch Spaltung, durch Zweitheilnng (cf. oben p. 10) sich vermehrende einzellige Organismen definiren, eine Zweigbildung aber voraussetzen würde, dass sich an der Zweigstelle aus einer Zelle nicht zwei, sondern drei Tochterzellen bildeten, oder aber, dass an dieser Stelle sich ausser der Zweitheilung eine Sprossnng etablirte.

[2]) Diese Cladothrix, welche ich in den letzten Jahren häufig in Berliner Leitungswasser angetroffen habe, wächst in Nährgelatine und auf Agar bei Zimmertemperatur gut, verflüssigt die Gelatine sehr langsam, färbt die Nährböden im Umkreise der Colonien braun.

[3]) Diese Crenothrix wurde gelegentlich in Spreewasser gefunden.

II.

Allgemeine Lebensbedingungen der Bakterien. Desinfection. Sterilisation. Antiseptik. Aseptik.

Die Bedingungen, welche vorhanden sein müssen, damit Bakterienwachsthum ermöglicht werde, sind je nach den verschiedenen Bakterienarten verschieden. Im Allgemeinen ist zunächst ein gewisser Wassergehalt des Nährbodens erforderlich, ohne den ja überhaupt organisches Leben undenkbar ist; ferner erfordern die allermeisten Bakterienarten einen Gehalt des Nährbodens an höheren organischen Verbindungen, da sie ihres Chlorophyllmangels wegen nicht im Stande sind, aus der Kohlensäure der Luft ihren Kohlenstoffbedarf zu entnehmen. Es bilden jedoch, wie bereits oben angegeben, einzelne Arten hierin eine Ausnahme; diese besitzen Chromophyll und vermögen Kohlensäure resp. Carbonate zu zerlegen.[1]) Diese wenigen Chromophyll führenden Bakterienarten sind auf Licht angewiesen; für die übrigen Arten jedoch, also für die grosse Mehrzahl der Bakterien, ist das Licht durchaus kein wachsthumsbegünstigender, sondern durchgängig ein wachsthumsschädigender, und zwar sehr erheblich schädigender Factor.[2]) Alle Bakterien sind wegen des Stickstoffgehaltes ihres Protoplasmakörpers auf stickstoffhaltigen Nährboden angewiesen; am besten eignen sich als stickstoffhaltiges Nährmaterial Eiweissstoffe; jedoch scheinen für einzelne Arten selbst die einfachsten Stickstoffverbindungen,

---

[1]) Hueppe und Heraeus (60. Vers. Deutscher Naturf. u. Aerzte. Wiesbaden 1887. — Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. p. 419) haben die wichtige Thatsache festgestellt, dass bei Bakterien auch eine „Chlorophyllwirkung ohne Chlorophyll“ vorkommt. D. h. es giebt chromophyllfreie Bakterien, welche ihren Kohlenstoffbedarf durch Assimilirung von Kohlensäure (in Form von Ammoniumcarbonat geboten) decken. Winogradsky (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890) hat eine derartige Bakterienart reincultivirt und (wegen ihrer nitrificirenden [Oxydation des Ammoniaks] Eigenschaften) als „Nitromonas“ bezeichnet.

[2]) cf. weiter unten, Schluss dieses Abschnittes.

Salpetersäure und Ammoniak, als Stickstoffquellen zu genügen. Die Existenz der sogenannten „Schwefelbakterien“ (cf. oben p. 10) ist an die Gegenwart freien Schwefelwasserstoffs gebunden, den diese Organismen durch einen Oxydationsprocess zunächst in Schwefel, dann in Schwefelsäure überführen[1]; die „Eisenbakterien“ (cf. oben p. 10) bilden das in ihrer Hülle eingelagerte Eisenoxyd durch einen bei ihrem Lebensprocesse stattfindenden Oxydationsvorgang aus Eisenoxydul, welches in dem Wasser ihrer Umgebung gelöst ist.[2])

Bekanntlich sind viele Bakterienarten Krankheitserreger, d. h. sie vermögen, in einen passenden Thierorganismus gelangt, auf Kosten des lebenden Materiales dieses Organismus sich zu vermehren. Man bezeichnet solche Bakterienarten als pathogene oder parasitische gegenüber den nicht pathogenen oder saprophytischen Arten, welche nur auf todtem Materiale leben. Unter den parasitischen Arten giebt es nun solche, die in der Natur, unter gewöhnlichen Verhältnissen, nur im Körper des lebenden Thieres resp. bestimmter Thierspecies, nicht auf todtem Materiale, zu gedeihen vermögen. Diese bezeichnet man als obligate (strenge, echte) Parasiten gegenüber den facultativen (gelegentlichen) Parasiten, die sowohl im lebenden Thierkörper wie auch auf todtem Nährboden zu wachsen vermögen. Von den obligat-parasitischen Bakterienarten lassen sich manche auf bestimmten, künstlich zubereiteten Nährböden cultiviren; bei anderen obligaten Parasiten ist die künstliche Cultur bis jetzt überhaupt nicht gelungen.

Ferner ist die chemische Reaction des Nährbodens für das Gedeihen der Bakterien von erheblichem Belang. Die meisten pathogenen Arten wachsen am besten bei leicht alkalischer Reaction des Nährbodens. Gegen Säuren sind die Bakterien im Allgemeinen mehr oder weniger empfindlich; jedoch verhalten sich, wie in allen übrigen Lebensbedingungen, auch hierin die einzelnen Arten verschieden von einander. Während z. B. der Cholerabacillus schon durch sehr geringe Mengen freier Säure im Nährboden in seiner Entwickelung gehemmt wird, verträgt der Typhusbacillus erheblich grössere Mengen der freien Säure.

Ganz ausserordentlich verschieden verhalten sich die Bakterien zu dem freien Sauerstoff. Viele Arten wachsen nur bei fortwährender ungehinderter Sauerstoffzufuhr (obligate Aëroben), bei anderen wird im Gegentheil durch die geringste Spur freien Sauerstoffs die

[1]) Winogradsky, Bot. Ztg. 1887. No. 31—37.
[2]) Winogradsky, Bot. Ztg. 1888. No. 17.

Entwickelung sofort sistirt (obligate Anaëroben), eine dritte Abtheilung nimmt eine Mittelstellung ein (facultative Anaëroben). Zu den letzteren, den facultativen Anaëroben, gehören die meisten pathogenen Bakterienarten. Es giebt aber mehrere wichtige pathogene Arten, welche obligate Anaëroben sind.

Von ausserordentlicher Bedeutung für das Bakterienwachsthum sind ferner die Temperaturverhältnisse. Auch hier zeigen wieder die verschiedenen Species verschiedenes Verhalten. Zunächst hat jede Art eine untere und eine obere Temperaturgrenze (Temperaturminimum, Temperaturmaximum), innerhalb deren überhaupt ein Wachsthum möglich ist. Die günstigste Temperatur für die Vermehrung einer Bakterienart bezeichnet man als ihr Temperaturoptimum. Im Allgemeinen findet Bakterienwachsthum statt zwischen Temperaturen von etwa 5° C. und etwa 45° C. Die Saprophyten wachsen im Allgemeinen besser bei niedrigerer, die Parasiten besser bei höherer Temperatur. Das Temperaturoptimum für die ersteren liegt gemeinhin um 20° herum, das der letzteren bei Körpertemperatur. Einzelne Bakterienarten jedoch fallen bezüglich ihrer Temperaturansprüche vollständig aus dem vorstehend gezeichneten Rahmen heraus. Globig[1]) hat in den oberflächlichen Bodenschichten in weitester Verbreitung das regelmässige Vorhandensein verschiedener Bacillenarten nachgewiesen, welche sich bei Temperaturen von 50—70° C. zu entwickeln vermögen, und Forster hat Bakterienarten entdeckt, die die Eigenschaft haben, bei 0° C. sich zu vermehren.[2])

Bezüglich der Bedingungen, welche die Bakterien an den Nährboden resp. an die Aussenverhältnisse stellen, ist im Allgemeinen noch darauf aufmerksam zu machen, dass man bei vielen Arten eine allmählich zu Stande kommende Gewöhnung (Anpassung) an einen der Art Anfangs nicht zusagenden Nährboden resp. an nicht zusagende äussere Verhältnisse beobachtet hat. Besonders bei zahlreichen pathogenen Arten hat man ein derartiges Verhalten constatirt. Freilich sind damit stets gewisse Aenderungen auch in den Lebensäusserungen ver-

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. p. 340. — Auch Fischer (Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 3) fand, und zwar im Kieler Hafen und Boden, eine Reihe von Bakterienarten, die bei 0° C. zu wachsen vermögen. — Fernere Untersuchungen von Forster über den Gegenstand (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 13) haben ergeben, dass in unserer Umgebung (Wasser, Boden, Strassenschmutz, Milch etc.) sich gewöhnlich zahlreiche Keime finden, welche bei 0° C. zu gedeihen vermögen; dieselben gehören nur wenigen Arten zu. Sie finden sich nicht etwa nur im Winter, sondern auch im Sommer.

knüpft, die manchmal den Verlust sehr wichtiger, für die Art ursprünglich characteristischer Eigenschaften bedeuten.

Vorstehend haben wir versucht, die wichtigsten Punkte, auf die es für das Bakterienwachsthum im Allgemeinen ankommt, zu skizziren. Eine jede Art stellt bezüglich jedes einzelnen Punktes ihre besonderen Ansprüche. Sind die Bedingungen resp. eine oder mehrere derselben ungünstig, so kommt es auf den Grad des Missverhältnisses an bezüglich der daraus resultirenden Folgen. Bei minder ungünstigen Verhältnissen wird das Wachsthum nur verzögert oder auch inhibirt (Entwickelungshemmung), die weitere Vermehrungsfähigkeit aber noch nicht aufgehoben; bei längerer Andauer der ungünstigen Verhältnisse resp. wenn die Qualität der Verhältnisse eine noch ungünstigere wird, kann auch die fernere Vermehrungsfähigkeit endgültig aufgehoben werden (Vernichtung).

Was speciell ungünstige Temperatureinflüsse angeht, so ist darüber im Allgemeinen folgendes zu sagen: Setzt man eine Bakterienart Temperaturen aus, die ausserhalb der für ihr Wachsthum noch geeigneten Grenztemperaturen liegen, so tritt zunächst eine Sistirung der Entwickelung ein. Die weiteren Wirkungen sind jedoch ganz verschieden, je nachdem die einwirkende Temperatur unterhalb des Temperaturminimums oder oberhalb des Temperaturmaximums der Art liegt. Selbst die niedrigsten künstlich zu erzeugenden Temperaturen vermögen im Allgemeinen auch bei längerer Einwirkung die fernere Entwickelungsfähigkeit der Bakterien nicht aufzuheben, während andrerseits bei Temperaturen von 55° bis 60° C. die vegetativen Formen der Bakterien im Allgemeinen in kurzer Zeit sicher getödtet werden. Ganz anders freilich verhalten sich die Bacillensporen, zu deren Vernichtung ganz erheblich höhere Temperaturen erforderlich sind.

Liegen die Bedingungen, und zwar nicht nur die Temperaturbedingungen, sondern die gesammten Lebensbedingungen, in einem gegebenen Falle zufällig so, dass in jedem einzelnen Punkte die Ansprüche auf das Beste erfüllt sind, so ist das Wachsthum das üppigste, schnellste, das überhaupt möglich ist. Gewöhnlich liegen die Bedingungen aber nicht in allen Punkten so günstig. Es ist nun in dieser Beziehung äusserst interessant, dass ungünstige Bedingungen des einen Punktes durch günstige eines anderen Punktes compensirt werden können. Zum besseren Verständniss dieser wichtigen Thatsache will ich einige Beispiele anführen. Der Cholerabacillus wächst auf geeignetem Nährboden bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur; bei der letzteren wächst er aber stets erheblich besser. Der Cholerabacillus wächst ferner am besten auf einem leicht alkalischen Nährboden; gegen geringste Mengen

freier Säure zeigt er sich empfindlich. Bringt man ihn nun auf die (leicht sauer reagirende) gekochte Kartoffel, so wächst er bei Zimmertemperatur hier nicht; er wächst aber auf diesem ihm recht wenig zusagenden Nährboden, wenn man denselben in den Brütschrank stellt. Es ist hier also die ungünstige chemische Beschaffenheit des Nährbodens compensirt worden durch die sehr günstigen Temperaturverhältnisse. Etwas Analoges beobachtet man z. B. auch bei den Milzbrandbacillen, welche ebenfalls sowohl bei Zimmer- wie bei Brüttemperatur, bei der letzteren aber stets erheblich besser, gedeihen. Bringt man diese Organismen in eine Nährgelatine (cf. weiter unten), der so viel Sublimat zugesetzt ist, dass 400 000 Theile des Nährbodens 1 Theil Sublimat enthalten, so wachsen hier die Milzbrandbacillen bei Zimmertemperatur (16—18 ^{0} C.) durchaus nicht. Bringt man die Sublimatgelatine aber in den Brütschrank, so gedeihen nun die Milzbrandbacillen auf ihr. Bei Brüttemperatur (36 ^{0} C.) wirkt entwickelungshemmend auf Milzbrandbacillen erst etwa das Zehnfache von demjenigen Gehalt des Nährbodens an Sublimat, der bei Zimmertemperatur das Wachsthum verhindert (Behring).

Veränderungen in den Culturbedingungen haben ausnahmslos eine Veränderung auch der Lebensäusserungen zur Folge. Die letzteren können geringfügiger Natur sein, sich auf Aenderung in der Schnelligkeit des Wachsthums etc. beschränken. Sie können jedoch auf der andern Seite auch sehr wesentlicher Natur sein und wichtige Umänderungen in dem gesammten Lebensprocesse der Art bedeuten. So wächst z. B. der Bacillus prodigiosus am besten bei Zimmertemperatur. Er producirt hier auf den Nährböden einen intensiv rothen Farbstoff; Hand in Hand damit geht die Production von Trimethylamin (Geruch nach Heringslake). Züchtet man den genannten Bacillus bei Brüttemperatur, so bleibt sowohl die Farbstoffproduction wie auch die Bildung von Trimethylamin vollständig aus. Im Uebrigen ist das Wachsthum ein sehr gutes bei der Brüttemperatur.

Im Anschluss an die geschilderten allgemeinen Lebensbedingungen der Bakterien möge hier ein Kapitel kurz berührt werden, welches in seinen Grundlagen mit den Bedingungen für das Leben und Sterben der Bakterien auf das Engste verknüpft ist: das Kapitel der Desinfection.

Wenn irgend welche Gegenstände desinficirt werden sollen, so heisst das so viel, als: es sollen die an oder in ihnen befindlichen krankheitserregenden organischen Keime getödtet werden, ohne dass, falls die zu desinficirenden Gegenstände Gebrauchsgegenstände sind, diese selbst erheblich geschädigt resp. unbrauchbar gemacht werden.

Der letztere Punkt, d. h. die Rücksichtnahme auf die fernere Brauchbarkeit der zu desinficirenden Gegenstände, ist aber von untergeordneter Bedeutung gegenüber dem anderen Punkte: der Nothwendigkeit der endgültigen Vernichtung der pathogenen organischen Keime.

Wir haben bereits gesehen, dass die Bakterienkeime von sehr verschiedener Resistenz gegen äussere Einwirkungen sind, je nachdem es sich um vegetative Formen oder um Sporen handelt. Ein Desinfectionsverfahren, welches allgemeine Anwendbarkeit für jedwede Form von Infectionskrankheit haben soll, muss demnach so eingerichtet sein, dass durch dasselbe die widerstandsfähigsten Sporen, welche wir bei krankheitserregenden Bakterien kennen, getödtet werden. Handelt es sich um ein Desinfectionsverfahren, welches nur für die Zerstörung ganz bestimmter Krankheitskeime, nur für die einer einzelnen Infectionskrankheit, bestimmt ist, so braucht dasselbe natürlich nur auf die specielle Natur der in Frage kommenden Krankheitserreger Rücksicht zu nehmen.

Ein dem Begriffe der Desinfection sehr nahestehender Begriff ist der der Sterilisation; man versteht hierunter das Keimfrei- (Steril-) machen irgend welcher Instrumente, Apparate, Nährböden etc., wobei man nicht speciell an krankheitserregende Keime, sondern an Keime von Organismen überhaupt denkt.

Die Tödtung von Bakterienkeimen kann nun hauptsächlich auf zweierlei Art geschehen: durch hohe Temperaturen und durch chemische Mittel (Desinfectionsmittel). Wenn wir unsere Messer, Scheeren, Platindrähte etc. zum Zwecke der Benutzung bei bakteriologischen Arbeiten keimfrei haben wollen, so werden dieselben in der Flamme des Bunsen'schen Gasbrenners oder in der Spiritusflamme „ausgeglüht“ resp. bis in die Nähe der Glühhitze gebracht. Die den Instrumenten anhaftenden Bakterienkeime werden dabei sämmtlich augenblicklich zerstört. Wenn wir Leichen von Versuchsthieren resp. die in ihnen befindlichen Bakterien unschädlich machen wollen, so verbrennen wir die Leichen im Ofen. Diese einfachen Manipulationen, bei denen sehr hohe Temperaturen zur Bakterienvernichtung in Anwendung kommen, sind nicht überall am Platze. Man hat sich deshalb mit niedrigeren Temperaturen zu behelfen gesucht und (früher) mit stark erhitzter (trockener) Luft „desinficirt“.

Die grundlegenden Versuche von R. Koch und Wolffhügel[1]) haben nun aber gezeigt, dass die trockene heisse Luft ein höchst unzweckmässiges Desinfectionsmittel ist. Damit alle Bakterienkeime

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881.

getödtet werden, ist dreistündige Einwirkung einer Temperatur von 140° C. nothwendig, und hierbei werden „fast alle Stoffe, welche der Hitze-Desinfection zugänglich sind, mehr oder weniger beschädigt“.[1]) Nichts desto weniger bedienen wir uns in gewissen Fällen auch heute noch der Einwirkung von heisser trockener Luft zum Zwecke der Desinfection, oder besser Sterilisation, wobei aber noch erheblich höhere Temperaturen als 140° C. zur Anwendung kommen. Es geschieht dies, wenn wir im Laboratorium trockene leere Glasgefässe oder Metallinstrumente, die ohne Schaden zu nehmen derartigen Temperaturen ausgesetzt werden können, steril, keimfrei machen wollen. Sie werden dann in den Trockenschrank oder Heissluftsterilisationsapparat[2]) gebracht, einen doppelwandigen Kasten von Schwarzblech, dessen Inneres mit Hülfe einer untergestellten kräftigen Gasflamme, und zwar durch die den Zwischenraum zwischen den Wandungen durchstreichenden Heizgase der letzteren, in wenigen Minuten auf 160—170° C. erhitzt werden kann. Die Bakterienkeime werden durch derartig hohe Temperaturen in etwa einer Stunde sämmtlich sicher vernichtet.

Viel energischer als die trockene heisse Luft wirkt der heisse Wasserdampf auf Bakterien ein. Die grundlegenden Versuche von R. Koch, Gaffky und Löffler[3]) haben in dem strömenden, ungespannten Wasserdampfe von 100° C. ein ebenso bequemes, überall leicht anzuwendendes, wie in der Sicherheit seiner Wirkung kaum mit irgend einem anderen vergleichbares Desinfectionsmittel kennen gelehrt.

Die resistentesten Krankheitskeime, welche wir kennen, sind die Milzbrandbacillensporen. Unter diesen giebt es wiederum je nach der Provenienz des Materiales, wie v. Esmarch[4]) gefunden hat, schwächer und stärker widerstandsfähige.[5]) Die am stärksten widerstandsfähigen Milzbrandbacillensporen hielten es allerdings in einem einzigen der sehr zahlreichen v. Esmarch'schen Versuche bis zu zwölf Minuten in dem strömenden Dampfe von 100° C. aus, ohne vernichtet zu werden; die Mehrzahl der Sporen zeigt sich jedoch bereits nach fünf Minuten vernichtet. In dem strömenden Wasserdampfe von

---

[1]) l. c. p. 312.
[2]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 47.
[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881.
[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.
[5]) Aehnlich ist es auch mit anderem Bakterienmateriale. Gruber (7. int. Congr. f. Hyg. u. Demogr. London 1891. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. p. 115) constatirte erhebliche Differenzen in der Resistenz von Staphylococcus aureus-Culturen verschiedener Provenienz.

100° C. haben wir demnach ein für alle Zwecke der Praxis genügendes, absolut zuverlässiges Desinfectionsmittel. Die modernen Desinfectionsanstalten, wie sie von Gemeindeverwaltungen zum öffentlichen Gebrauche in den Städten eingerichtet werden, wenden fast ausschliesslich den strömenden Wasserdampf an. Im Laboratorium bedient man sich für die Zwecke der Desinfection resp. Sterilisation durch Dampf des sog. Dampftopfes, eines mit Filz oder Asbest umkleideten, unten geschlossenen, oben offenen und hier mit einem Deckel versehenen Zinkblechcylinders, dessen Inneres durch einen im unteren Drittel angebrachten Rost in zwei Abtheilungen eingetheilt ist, von denen die untere zum Theile mit Wasser gefüllt wird, während die obere zur Aufnahme der zu sterilisirenden Gegenstände dient; das Wasser wird durch die Flamme eines unter den Kupferblechboden des Cylinders gestellten starken Gasbrenners in's Kochen gebracht.

Noch erheblich stärker keimtödtend als der strömende, ungespannte Dampf von 100° C. wirkt der gespannte Wasserdampf von höherer Temperatur. Globig[1]) fand bei Gelegenheit seiner Studien über im Erdboden vorkommende, bei hohen Temperaturen wachsende Bacillenarten (cf. oben p. 22) einen eigenthümlichen, durch rothe Färbung seiner Colonien ausgezeichneten, übrigens nicht pathogenen Bacillus („rother Kartoffelbacillus"), dessen Sporen eine ganz ungewöhnliche Widerstandsfähigkeit zeigen. Die letztere geht bei Weitem über die der Milzbrandbacillensporen hinaus; eine grössere Widerstandsfähigkeit organischer Keime ist überhaupt nicht bekannt.

Diese Sporen wurden

im strömenden	Dampfe	von	100° C.	erst nach $5^1/_2$—6 Stunden vernichtet,	
„ gespannten	„	„	109—113° C.	lebten sie nach 45 Min. noch,	
„ „	„	„	113—116° C.	wurden sie in 25 Min. vernichtet,	
„ „	„	„	122—123° C.	„ „ „ 10 „	„
„ „	„	„	126° C.	„ „ „ 3 „	„
„ „	„	„	127° C.	„ „ „ 2 „	„
„ „	„	„	130° C.	„ „ augenblickl. zerstört.	

Aus der vorstehenden Tabelle sieht man, dass mit steigender Temperatur die Desinfectionskraft des (gespannten) Wasserdampfes zunimmt, und es liegt deshalb sehr nahe, daran zu denken, dass an Stelle der mit strömendem Dampfe arbeitenden Apparate viel besser die mit gespanntem Dampfe arbeitenden Apparate (Autoclave, Digestor) zu benutzen wären. Zweierlei steht jedoch der allgemeinen Einführung der letzteren entgegen. Wenn ein Desinfectionsapparat mit gespanntem

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

Dampfe arbeiten soll, so setzt dies einen hermetisch verschliessbaren Raum voraus, in welchem die Dämpfe entwickelt werden. Es ist aber, bevor der genannte Raum geschlossen wird, unumgänglich nothwendig, dass auch die letzten Spuren atmosphärischer Luft aus demselben entfernt werden, dass nur Dampf in ihm enthalten ist. Denn erhitzte Luft ist ein sehr unzuverlässiges Desinfectionsmittel, wie wir oben gesehen haben, und es würde durch das Zurückbleiben von Luft in dem Apparate der Erfolg der Desinfection ein zweifelhafter werden. Der Zeitpunkt aber, in welchem alle Luft entfernt ist, ist gar nicht ganz leicht festzustellen; es erfordert dies jedenfalls ein besonders geschultes Personal. Der zweite Grund, welcher der Einführung derartiger Apparate entgegensteht, ist der der Explosionsgefahr. Zur Aufstellung derselben bedarf es stets besonderer polizeilicher Genehmigung. Beide Punkte kommen nicht in Betracht bei den gebräuchlichen, mit ungespanntem Dampfe von 100° C. arbeitenden Desinfectionsapparaten.

Jeder Dampfdesinfectionsapparat sollte so construirt sein, dass der Dampf an der obersten Stelle des Desinfectionsraumes in den letzteren eingeleitet wird, und dass er an der untersten Stelle desselben wieder austritt. Da der Dampf specifisch leichter ist als die atmosphärische Luft, so kommt nur bei dieser Anordnung eine möglichst schnelle Verdrängung der Luft durch den Dampf zu Stande.

Man hat übrigens daran gedacht, ungespannten Wasserdampf von 100° C. über stark erhitzte Metallflächen streichen zu lassen, um ihm dadurch eine höhere Temperatur zu verleihen, ohne dass dabei seine Spannung eine höhere würde. Solcher ungespannter strömender überhitzter Dampf verhält sich nun, wie Versuche von v. Esmarch[1]) gezeigt haben, in seiner keimtödtenden Kraft genau wie erhitzte trockene Luft, d. h. er ist für die Zwecke der Desinfection im Allgemeinen ebenso unbrauchbar wie heisse, trockene Luft.

Die Gebrauchsgegenstände des täglichen Lebens, welche in den Desinfectionsanstalten mit strömendem Wasserdampfe behandelt werden, vertragen im Allgemeinen diese Procedur ausgezeichnet. Kleider, Wäsche, Betten, Bücher kommen aus dem Apparate unversehrt hervor. Sie trocknen an der Luft in kürzester Frist und sind dann wieder gebrauchsfähig. Nur Leder macht hierin eine Ausnahme. Leder wird durch die Dampfbehandlung in eine starre, brüchige, absolut unbrauchbare Masse verwandelt.

Die im Vorhergehenden geschilderten Methoden der Desinfection durch höhere Temperaturen verwenden Hitzegrade von 100° C. oder

---

[1]) Zeitschrift f. Hygiene. Bd. 3. 1887.

darüber. Gelegentlich der Besprechung der Bereitung der bakteriologischen Nährböden werden wir eine Methode kennen lernen, welche eine sichere Sterilisirung für gewisse Zwecke bei erheblich niedrigeren Temperaturen (um c. 56° C.) ermöglicht (cf. Sterilisirung des Blutserums).

An dieser Stelle sei das sogenannte Pasteurisiren erwähnt. Man versteht darunter eine, speciell für Milch (und Bier) angewendete, Methode des Haltbarermachens flüssiger Nahrungsmittel durch kurzdauernde Erhitzung auf 70—75° C. und nachfolgende Abkühlung. Selbstverständlich werden vorhandene Sporen durch das Pasteurisiren nicht beeinflusst.

Ausser durch hohe Temperaturen kann nun eine Sterilisirung oder Desinficirung auch durch chemische Mittel bewirkt werden. Es giebt eine ganze Reihe von Körpern, welche, in flüssiger Form mit Bakterienkeimen kürzere oder längere Zeit in Berührung gebracht, die letzteren mehr oder weniger schädigen resp. tödten. Durch grundlegende Versuche R. Koch's[1]) wurde der Nachweis erbracht, dass solche Körper in Wasser gelöst sein müssen, damit sie auf die Bakterienzelle einwirken können. Oelige oder alkoholische Lösungen haben eine desinficirende oder keimtödtende Wirkung nicht. Koch fand, dass, wie dies für die Desinfection durch Hitze gilt, so auch einem jeden chemischen Desinfectionsmittel gegenüber sich Dauerformen und vegetative Formen durchaus verschieden verhalten. Die letzteren werden stets erheblich leichter vernichtet als die Sporen.

Die vegetativen Formen der Bakterien haben im Allgemeinen die Eigenschaft, dass sie die völlige Wasserentziehung, das Austrocknen, nur kürzere Zeit ertragen. Im Allgemeinen werden Bakterienwuchsformen durch wenige Tage langes Trockenliegen resp. durch wenige Tage lang andauernde Wasserentziehung getödtet. Einzelne Species sind ausserordentlich leicht durch Austrocknen zu vernichten. Hierhin gehört z. B. der Cholerabacillus, welcher nach mehrstündigem (etwa dreistündigem) wirklichem Austrocknen[2]) nicht mehr keimfähig, d. h. todt ist. Die Dauerformen der Bakterien hingegen werden, soweit unsere Erfahrungen reichen, durch auch noch so lange Wasserentziehung nicht beeinflusst.

Die Kenntniss dieser Verhältnisse ist nothwendig, wenn man das Verhalten von bestimmten chemischen Mitteln Bakterien gegenüber

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881.

[2]) Ein wirkliches Austrocknen ist in kürzester Zeit nur dann zu erreichen, wenn die bacillenhaltige Flüssigkeit in dünnster Schicht angetrocknet wird (z. B. am Deckglase).

zu prüfen hat. Als Koch[1]) z. B. die Einwirkung von 5 proc. Carbolöl (Olivenöl) auf Milzbrandbacillen (nicht Sporen) studirte, fand er, dass die Bacillen nach sechstägigem Aufenthalte in dem Carbolöl todt waren. Genau dasselbe Resultat erhielt er mit 1 proc. Carbolöl, genau dasselbe auch mit reinem Olivenöl. Alle diese Körper wirkten, ebenso wie eine 5 proc. alkoholische Carbolsäurelösung auf Milzbrandsporen auch bei monatelanger Berührung nicht im mindesten ein.[2]) Früher schon hatte R. Koch[3]) nachgewiesen, dass in dünnen Schichten angetrocknete sporenfreie Milzbrandbacillen durch das Austrocknen in 12—30 Stunden ihre Keimfähigkeit verlieren. In den eben geschilderten Versuchen mit den öligen Flüssigkeiten haben die letzteren also nicht nur nicht irgendwie die Tödtung der Bacillen beschleunigt, sondern sie haben höchst wahrscheinlich sogar etwas conservirend auf die Bacillen gewirkt, da dieselben sich erst nach sechs Tagen abgestorben zeigten. Es ist dies vielleicht dadurch zu erklären, dass die öligen Flüssigkeiten das völlige Austrocknen etwas verzögerten.

Die oben citirten Koch'schen Desinfectionsversuche haben eine Reihe von grundlegenden Daten festgestellt. Koch wies die völlige Unwirksamkeit von Alkohol, von Glycerin, Chloroform, Schwefelkohlenstoff, Benzol auf Milzbrandsporen nach. Er fand andererseits, dass frisch bereitetes Chlorwasser, Bromwasser (2 : 100), Jodwasser gute Desinficientia sind. Dieselben vernichteten Milzbrandsporen innerhalb eines Tages. Dasselbe that 1 proc. wässerige Osmiumsäurelösung sowie 1 proc. wässerige Kaliumpermanganatlösung. Terpentinöl brauchte fünf Tage, 5 proc. wässerige Eisenchloridlösung sechs Tage, 2 proc. wässerige Salzsäurelösung zehn Tage, Aether dreissig Tage, um dieselbe Wirkung auszuüben. Besonders interessant waren die Ergebnisse für wässerige Carbolsäurelösungen. Eine 1 proc. sowohl wie eine 2 proc. Lösung wirkten nicht mit Sicherheit auf Milzbrandsporen; eine 3 proc. brauchte sieben Tage, eine 4 proc. drei Tage, eine 5 proc. zwei Tage, um Milzbrandsporen zu vernichten. Die letzteren Zahlen gelten jedoch nicht für Milzbrandsporen jedweder Provenienz. Nach den oben citirten Ermittelungen von E. v. Esmarch giebt es Milzbrandsporen, welche die Einwirkung

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881. p. 251.

[2]) Wie Teuscher (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 510) gefunden hat, bleiben sehr widerstandsfähige Milzbrandsporen in reinem crystallisirten Phenol (Carbolsäure), welches im Brütschrank flüssig gehalten wird, bis zu $4^1/_2$ Tagen entwickelungsfähig.

[3]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 291.

5 proc. wässeriger Carbolsäurelösung länger als vierzig Tage ohne Schädigung ertragen.

Als das mächtigste chemische Desinfectionsmittel ergab sich bei den Koch'schen Versuchen das Quecksilberchlorid (Sublimat). Durch eine $^1/_{10}$ proc. wässerige Lösung dieses Körpers zeigten sich Milzbrandsporen innerhalb weniger Minuten vernichtet. Die Milzbrandsporen wurden bei diesen Versuchen, an kurzen Seidenfäden angetrocknet, dem Desinfectionsmittel ausgesetzt. Nach gewisser Zeit wurden die Seidenfäden aus der Sublimatlösung herausgenommen, mit Wasser und (zur Entfernung der letzten Reste des in Wasser schwer löslichen Sublimats) mit Alkohol abgespült und dann zur Untersuchung der Keimfähigkeit auf künstlichen Nährboden oder in den Körper eines für Milzbrand empfänglichen Versuchsthieres gebracht. Ein Ausbleiben der Entwickelung von Milzbrandbacillen in den Culturen resp. das dauernde Gesundbleiben des Thieres wurde als beweisend angesehen für die gelungene Sporenvernichtung.

Später hat jedoch Geppert[1]) gezeigt, dass das Ausbleiben des Auskeimens und der weiteren Entwickelung der Milzbrandsporen unter den geschilderten Umständen nicht jedesmal mit Sicherheit als endgültige Vernichtung der Sporen aufgefasst werden darf. Geppert wies nach, dass den Sporen, welche mit Sublimatlösung behandelt, mit Wasser und Alkohol abgespült sind, immer noch geringe Reste von Sublimat anhaften, und dass diese Reste es sind, welche die fernere Entwickelung der Sporen auf den geeignetsten Nährböden verhindern. Durch kürzere oder längere Behandlung der Sporen mit Schwefelammonium oder mit anderen Quecksilber ausfällenden Lösungen liessen sich diese Sublimatreste aus den Sporen entfernen, und dann waren die Sporen wieder fähig, auf künstlichen Nährböden oder im Thierkörper auszukeimen, d. h. Culturen zu bilden resp. Infection zu veranlassen. Die Versuche von Geppert haben gezeigt, dass im Durchschnitt eine 20 Stunden lange Einwirkung der $^1/_{10}$ proc. Sublimatlösung auf die Milzbrandsporen erforderlich ist, um dieselben so weit zu schädigen, dass sie (nach erfolgter Ausfällung des Sublimats) keine Infection mehr veranlassen. Die so geschädigten Sporen geben aber immer noch zu Culturen auf künstlichem Nährboden Veranlassung. Erst nach drei Tage langer Beeinflussung der Sporen durch die Sublimatlösung erlischt die Fähigkeit der Auskeimung auf künstlichem

---

[1]) Berl. klin. Woch. 1889. No. 36, 37. — Deutsche med. Woch. 1891. No. 37.

Nährboden.[1]) Geppert stellte übrigens seine Versuche nicht mit Seidenfäden, an denen Sporen angetrocknet sind, an; diese Seidenfäden setzen dem Eindringen des Desinfectionsmittels immer einen gewissen Widerstand entgegen; er stellte sich vielmehr eine dünne Aufschwemmung isolirter Sporen in Wasser dar und schuf dadurch die denkbar günstigsten Bedingungen für die Einwirkung der Desinfectionsflüssigkeit auf die Sporen.

Sublimatlösungen sowohl wie Carbolsäurelösungen gewinnen durch Zusatz von Säuren ganz erheblich an keimtödtender Kraft. Ausserdem hat der Zusatz von Säure ($^1/_2\,^0/_0$ Salzsäure oder Weinsäure) zu Sublimatlösungen noch den Vortheil, dass sich die letzteren selbst bei Benutzung gewöhnlichen Wassers dauernd unzersetzt halten, was ohne diesen Zusatz nur bei Anstellung der Flüssigkeit mit reinstem destillirtem Wasser und Aufbewahrung im Dunkeln der Fall ist. Statt der Säure kann auch Kochsalz als Zusatz genommen werden.[2])

Die sogenannte rohe Carbolsäure, ein in Wasser unlösliches Gemisch verschiedener Phenole, harziger Stoffe und anderer Körper, vermochte Laplace[3]) durch Vermischen mit roher Schwefelsäure in eine wasserlösliche Substanz („rohe Schwefelcarbolsäure") überzuführen, die sehr erhebliche desinficirende Eigenschaften hat. C. Fraenkel[4]) hat gefunden, dass diese Eigenschaften noch wesentlich zunehmen, wenn die Mischung nicht, wie es Laplace that, bei höherer Temperatur, sondern im Gegentheil unter energischer Abkühlung durch Eis, vorgenommen wird. In der resultirenden Flüssigkeit sind durch den Säurezusatz die höher (bei 185—205° C.) siedenden Homologen des Phenols, die Methylphenole oder Kresole, welche in der rohen Carbolsäure in unlöslichem Zustande vorhanden waren, wasserlöslich geworden; diese Körper, die Kresole, sind mit ganz hervorragenden keimtödtenden Eigenschaften ausgestattet.

An dieser Stelle mag auch das englische (Pearson'sche, Jeyes'sche) Creolin erwähnt werden, welches ein Gemisch von Seife, Kohlenwasserstoffen, Pyridinen und Phenolen ist, und welches unter Umständen, nämlich wenn es in eiweissfreien Lösungen auf Bakterienkeime einwirkt, ein vortreffliches Desinfectionsmittel ist (Behring).

---

[1]) Wie weit für dieses Stadium der Sporenschädigung „der bisher übliche Begriff der Abtödtung" zutrifft, lässt Geppert dahingestellt.

[2]) cf. Angerer, Centr. f. Chir. 1887. No. 7. — Laplace, Deutsche med. Woch. 1887. No. 40. — Michaelis, Zeitschrift für Hyg. Bd. 4. 1888.

[3]) Deutsche med. Woch. 1888. No. 7.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

Das Lysol[1]), ein Präparat, welches wasserlöslich gemachte Kresole[2]) enthält, ist dem Creolin an desinficirender Kraft noch überlegen (Schottelius[3]), Gerlach[4])).

Als brauchbares Desinfectionsmittel hat sich ferner der Aetzkalk herausgestellt; namentlich für Faeces, für Abortgruben verdient derselbe Empfehlung (Pfuhl).

Schimmelbusch erkannte in der kochenden 1proc. wässerigen Sodalösung ein äusserst kräftig wirkendes Desinfectionsmittel; dasselbe zerstört sehr resistente Milzbrandsporen in 2 Minuten.[5])

Gasförmige Desinfectionsmittel haben sich im Allgemeinen nicht als zuverlässig erwiesen.

Wenn wir hier die wichtigsten chemischen keimtödtenden Mittel kurz betrachtet haben, so wollen wir andererseits darauf verzichten, die vielerlei anderen chemischen Körper, welche auf ihre keimtödtenden Eigenschaften untersucht worden sind, zu berühren.[6]) Es sei aber auf eine Reihe wichtiger principieller Punkte hingewiesen, die bei Prüfung chemischer Körper auf ihre desinficirenden (bakterienschädigenden) Wirkungen zu beachten sind.[7]) Zunächst kommt es sehr an auf die chemische Beschaffenheit des Desinfectionsobjectes, d. h. des Mediums, in welchem das Mittel auf die Bakterien einwirkt. Wie Behring fand, werden z. B. Milzbrandbacillen, die in Wasser vertheilt sind, schon in wenigen Minuten durch einen Sublimatgehalt von 1:500000 sicher getödtet, in Bouillon erst durch einen Gehalt von 1:40000, während in Blutserum, wenn die Desinfection in wenigen Minuten erfolgen soll, ein Sublimatgehalt von 1:2000 noch nicht immer ausreicht. Boer[8]) fand, dass bei einzelnen Bakterienarten die Widerstandsfähigkeit gegen Desinfectionsmittel eine verschiedene ist je nach der chemischen Reaction des Mediums, in welchem sie sich befinden. Ferner gilt der Desinfectionswerth, den ein bestimmtes Mittel der einen Bakterienart gegenüber besitzt, durchaus nicht ohne Weiteres für das Verhalten des Mittels gegen jede beliebige andere Bakterienart. Ferner kommt es,

1) Erzeuger: Schülke & Mayr, Hamburg.

2) Das Verfahren der Darstellung steht unter Patentschutz.

3) Münch. med. Woch. 1890. No. 19, 20.

4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891.

5) Arb. a. d. chir. Klin. d. K. Univ. Berlin. 5. Theil. 1891. p. 78.

6) Eine ausführliche Darstellung des derzeitigen Standes der Frage der Desinfection durch chemische Mittel findet man bei Behring (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890).

7) In den nachfolgenden Zeilen lehne ich mich an die eben citirte Arbeit Behring's an.

8) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890.

wie das bereits aus den oben (p. 30) citirten Koch'schen Desinfectionsuntersuchungen hervorgeht, an auf die Dauer der Einwirkung des Desinfectionsmittels. Je kürzere Zeit ein Mittel einwirkt, in desto stärkerer Lösung muss es vorhanden sein, damit derselbe Effect erzielt wird. Ein weiterer, ausserordentlich wichtiger Punkt ist, wie A. Henle[1]) gefunden hat, die Temperatur, bei welcher das Desinficiens einwirkt. Je höher die Temperatur, um so energischer der Desinfectionseffect.[2]) Auch kommt es, wie zuerst (unabhängig von einander) Buchner[3]) und Nissen[4]) betont haben, auf die Zahl der Bakterienzellen an, welche im gegebenen Falle abzutödten sind. Eine grössere Anzahl erfordert eine grössere Menge des Mittels. Ferner muss man die Prüfung auf die eventuell erfolgte Abtödtung der Bakterien, oder, was dasselbe ist, die Prüfung, ob ihre Keimfähigkeit erhalten geblieben ist, einwandsfrei einrichten. Es kommt vor, dass Bakterien, die der Einwirkung eines Mittels unterworfen wurden, bei der nachfolgenden Prüfung ihrer Entwickelungsfähigkeit, wenn dieselbe bei einer der Art weniger zusagenden Temperatur vorgenommen wird, nicht wachsen, während sie dagegen sofort sich weiter entwickeln, wenn sie in möglichst günstige Temperaturverhältnisse gebracht werden. Man muss deshalb die Prüfung stets bei dem Temperaturoptimum der zu dem Versuche benutzten Bakterienart anstellen. Endlich hat Gruber[5]) darauf aufmerksam gemacht, dass (da nach der Einwirkung des Desinfectionsmittels die Auskeimung häufig verlangsamt ist) es nothwendig ist, die Beobachtungszeit bei der Prüfung der event. erhaltenen Keimfähigkeit möglichst lange auszudehnen.[6])

Es sei noch auf eine interessante allgemeine Beziehung hingewiesen, die zwischen der Giftigkeit chemischer Körper für Bakterien und ihrer Giftigkeit für den thierischen Organismus zu bestehen scheint.

---

[1]) Arch. f. Hyg. Bd. 9. 1889.

[2]) Heider (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. p. 221 und Arch. f. Hyg. Bd. 15. 1892) theilt mit, dass Milzbrandsporen, die durch 36 tägige Einwirkung von 5 proc. Carbolwasser bei Zimmertemperatur nicht vernichtet wurden, bei 55° C. in 1—2 Stunden durch dasselbe Desinfectionsmittel zerstört wurden. Bei 75° C. waren 3 Minuten erforderlich; 3 proc. Carbolwasser tödtete dieselben Sporen bei dieser Temperatur in 15 Minuten, 1 proc. Carbolwasser in 2—2½ Stunden.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. p. 10.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 495.

[5]) 7. int. Congr. f. Hyg. u. Demogr. London 1891.

[6]) So sah Gruber Milzbrandsporen, die 24 Stunden in $^1/_{10}$ proc. Sublimatlösung gelegen hatten, manchmal erst nach 7 Tagen auskeimen, obwohl sie im Uebrigen weiter nicht geschädigt und insbesondere noch vollvirulent waren.

Behring[1]) fand für eine ganze Anzahl von bakterienschädigenden (antiseptischen) Stoffen, dass die tödtliche Dosis derselben für ein Kilo Kaninchen oder Maus ziemlich genau ein Sechstel beträgt von derjenigen Dosis, welche in einem Kilo Blutserum das Wachsthum der Milzbrandbacillen verhindert. Behring nennt diese Beziehung die „relative Giftigkeit“ und sagt: die relative Giftigkeit von Carbolsäure, Sublimat, Jodtrichlorid, Creolin u. s. w. ist gleich 6. Für den thierischen Organismus ungiftige Antiseptica werden sich wohl kaum auffinden lassen.

Allgemein bekannt ist die grosse Bedeutung, welche die Verhältnisse, die bei der künstlichen Vernichtung der Bakterien, speciell der Vernichtung durch chemische Mittel, in Frage kommen, für die operative Medicin, für Chirurgie und Geburtshülfe haben. Der moderne Chirurg kommt relativ seltener in die Lage, antiseptisch vorgehen zu müssen; dagegen ist es stets seine erste Sorge, „aseptisch“ zu arbeiten, d. h. mit keimfreien Fingern, keimfreien Instrumenten, keimfreien Verbandstoffen zu operiren. Fürbringer[2]), welcher sich bemüht hat, ein möglichst sicheres Verfahren zur Desinfection der Hände zu finden, wendet nach einander, je eine Minute lang, an: Seife mit Bürste und warmem Wasser, Alkohol (mindestens 80 procentig), 2 promill. Sublimatlösung. Diese Methode hat bereits eine grosse Verbreitung gefunden. — Die Verbandstoffe werden jetzt meist im strömenden Wasserdampfe sterilisirt und in dadurch geschaffenem keimfreien Zustande ohne Zusatz antiseptischer Substanzen verwendet. Zur Sterilisirung chirurgischer Metallinstrumente verfährt man nach Ermittelungen von Schimmelbusch[3]) am besten so, dass die Instrumente zunächst mechanisch sorgfältig gesäubert, dann in 1 proc. wässeriger Sodalösung (cf. oben p. 33) 5 Minuten lang gekocht werden. Die so sicher sterilisirten Instrumente werden bis zum Gebrauch in eine wässerige Lösung gelegt, die 1 % Soda und 1 % Carbolsäure enthält.

Am Schlusse dieses Kapitels wollen wir noch auf die mächtigen Wirkungen hinweisen, die dem Lichte[4]) den Bakterien gegenüber zukommen (cf. p. 20). Durch directes Sonnenlicht werden Milz-

[1]) cf. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 475 ff.

[2]) Untersuchungen und Vorschriften über die Desinfection der Hände des Arztes etc. Wiesbaden. 1888.

[3]) Arbeiten a. d. chir. Klinik d. K. Univ. Berlin. 5. Theil. 1891. p. 46 ff.

[4]) Die Literatur über diesen Gegenstand findet man bei Raum (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889), ferner bei Janowski (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 167 ff.).

brandsporen in Bouillon binnen wenigen Stunden vernichtet (Arloing). Aber auch das zerstreute Tageslicht hat deutlich bakterienschädigende Eigenschaften.[1]) Culturen der Tuberkelbacillen sterben, wenn sie dicht am Fenster aufgestellt sind, in 5—7 Tagen ab (Koch[2]). Unter den das weisse Licht zusammensetzenden Strahlen scheinen besonders den blauen und violetten[3]) bakterienschädigende Eigenschaften zuzukommen.

In den letzten Jahren ist auch mehrfach über bakterienschädigende Wirkungen der Electricität berichtet worden.[4])

---

[1]) Eine hübsche Methode, den schädigenden Einfluss des Lichtes zu demonstriren (theilweise Belichtung dichtbesäeter Agarplatten) hat kürzlich H. Buchner (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 7/8) angegeben.

[2]) 10. internat. medic. Congress. Berlin 1890.

[3]) Neuerdings sah Geisler (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 172), und zwar bei Versuchen mit Typhusbacillen, die in Nährgelatine gezüchtet wurden, dass der entwickelungshemmende Einfluss des Lichtes um so grösser war, je kurzwelliger, brechbarer die einwirkenden Strahlen waren. Den grössten Einfluss hatten die ultravioletten, den geringsten die rothen Strahlen.

[4]) Die Literatur über diesen Gegenstand siehe bei Spilker und Gottstein (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. No. 3/4) sowie bei S. Krüger (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 22. 1893).

III.

Allgemeine Lebensäusserungen der Bakterien.



Bei dem Wachsthum und der Vermehrung der Bakterien treten eine grosse Reihe von Erscheinungen zu Tage, die sämmtlich in letzter Linie darauf zurückzuführen sind, dass durch den Lebensprocess der Bakterien die complicirten Verbindungen, aus denen der Nährboden zusammengesetzt ist, in einfachere übergeführt werden. So wie aber eine jede einzelne Art ihre eigenen specifischen Lebensbedingungen hat, so sind auch die Processe, welche mit dem Bakterienwachsthum verknüpft sind, und die Erscheinungen, welche durch dasselbe veranlasst werden, die Lebensäusserungen, für die einzelnen Arten verschieden.

Was die chemischen Processe betrifft, die bei dem Wachsthum der Bakterien in die Erscheinung treten, so können hierbei (als Stoffwechselproducte) die einfachsten chemischen Verbindungen gebildet werden: Kohlensäure, Wasserstoff, Methan, Schwefelwasserstoff[1],

---

[1]) Nach Untersuchungen von Petri und Maassen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 9/10) sowie nach Untersuchungen von Stagnitta-Balistreri, die im Rubner'schen Institut ausgeführt wurden (Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1892), ist die Schwefelwasserstoffbildung eine weit verbreitete Eigenschaft der Bakterien. Stagnitta constatirte, dass die Zusammensetzung des Nährbodens von wesentlicher Bedeutung bezüglich des Zustandekommens der Schwefelwasserstoffbildung und bezüglich der Quantität des gebildeten Schwefelwasserstoffs ist. Rubner (Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1892) hat nachgewiesen, dass der zur Bildung des Schwefelwasserstoffs nothwendige Schwefel ganz allgemein aus organischen Schwefelverbindungen des Nährbodens entnommen wird. (Auch der für den Aufbau der Körpersubstanz der Bakterien nothwendige Schwefel wird nach Rubner's Ermittelungen (l. c.) ganz allgemein organischen Schwefelverbindungen entnommen). — Der Nachweis der Schwefelwasserstoffbildung bei Bakterienculturen wird sehr bequem durch Einhängung eines mit Bleizuckerlösung getränkten Fliesspapierstreifchens in das Culturgefäss geführt. Bei Schwefelwasserstoffentwickelung tritt Schwärzung (Bildung von Schwefelblei) ein (cf. Schrank, Wien. med. Jahrbücher. 1888. p. 313). Fromme (Diss. Marburg 1891. — Ref. Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. p. 274) stellt sich behufs des Schwefelwasserstoffnachweises eine Eisengelatine her (Zusatz von 3 $^0/_0$ Eisentartarat oder Eisensaccharat zu Nährgelatine). Dieser Nährboden zeigt durch Schwarzfärbung (Bildung von Schwefeleisen) Schwefelwasserstoffbildung an.

Ammoniak u. dgl. Ferner kommt es bei den Zersetzungen des Nährbodens zur Bildung der verschiedenartigsten Fermente[1]) oder Enzyme. So giebt es Bakterienarten, welche diastatische Fermente bilden (d. h. solche, die Stärke in Traubenzucker umwandeln); andere bilden invertirende Fermente (Umwandlung von Rohrzucker in Traubenzucker); andere Bakterienarten bilden peptonisirende Fermente, d. h. solche, die geronnenes Eiweiss, erstarrte Gelatine lösen (peptonisiren); andere Bakterien bringen durch Production von Labferment Milch zur Gerinnung (Ausfällung des Caseïns).

Ferner werden durch Bakterien die verschiedenartigsten Gährungen[2]) zu Stande gebracht. Unter Gährung versteht man die Zerlegung organischen Materials unter Gasentwickelung. Eine Anzahl von Arten vergährt Zucker unter Bildung von Milchsäure[3]) (Milchsäuregährung); andere vergähren Stärke und Zucker unter Bildung von Buttersäure (Buttersäuregährung); bei den beiden Arten der Gährung wird zugleich Kohlensäure, bei der Buttersäuregährung ausserdem Wasserstoff gebildet. Weitere Arten der Gährung sind die besonders in Wein auftretende schleimige oder Mannitgährung, welche durch Bildung einer fadenziehenden, schleimigen Gummiart und von Mannit und Kohlensäure aus Traubenzucker characterisirt ist; ferner die Essiggährung (Verwandlung des Aethylalkohols durch Oxydation in Essigsäure). Ferner ist hier zu nennen die ammoniakalische Harnstoffgährung (Spaltung des Harnstoffs in Kohlensäure und Ammoniak).

Zu den Gährungen gehören auch die verschiedenartigen Fäulnissprocesse[4]), d. h. die Zersetzungen stickstoffhaltiger organischer Massen unter Entbindung stinkender Producte (Eiweissgährung). Im Allgemeinen hat man zwei verschiedene Arten der Zersetzung der complicirten stickstoffhaltigen organischen Verbindungen, der Eiweissstoffe, durch Bakterien zu unterscheiden. Die eine ist die Fäulniss, die andere die Verwesung. Die Fäulniss (unter der wir, wie eben gesagt, die Zersetzung des Eiweissmoleküls unter Auftreten stinkender Producte verstehen) findet fast immer unter Abschluss von

---

[1]) cf. Flügge, Die Mikroorganismen. 2. Aufl. Leipzig 1886. p. 466 ff.

[2]) cf. Flügge, l. c. p. 483 ff.

[3]) Nencki (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. p. 304) hat darauf aufmerksam gemacht, dass von differenten Bakterienarten differente (isomere) Milchsäuren gebildet werden können, und dass die durch diese Isomerien bedingten physikalischen und chemischen Unterschiede unter Umständen zur Differentialdiagnose einander ähnlicher Spaltpilzarten benutzt werden können.

[4]) cf. Flügge, l. c. p. 493 ff.

Sauerstoff[1]) statt. Sie wird bedingt durch den Lebensprocess anaërober Bakterien, sie stellt einen Reductionsprocess[2]) dar. Im Gegensatz dazu bildet die Verwesung einen Oxydationsprocess[3]); sie findet statt unter der Mitwirkung von atmosphärischem Sauerstoff.

Die Fäulnissprocesse gehen selbstverständlich um so schneller vor sich, je günstiger die Temperaturverhältnisse für das Wachsthum der betheiligten Bakterien liegen. Man kann deshalb Objecte (Fleisch etc.), welche leicht in faulige Zersetzung übergehen, durch Halten bei niedriger Temperatur einigermassen conserviren. Dass aber selbst bei 0° C. Fäulniss stattfindet (wenn auch relativ langsam) hat Forster, dem wir (cf. oben p. 22) die Entdeckung bei 0° wachsender Bakterienarten verdanken, nachgewiesen.[4])

Bei der Fäulniss werden nie so einfache Verbindungen gebildet wie bei der Verwesung, aus der schliesslich die allereinfachsten anorganischen Verbindungen, Nitrate, Sulfate, Kohlensäure, hervorgehen.

Pasteur, welcher diese Vorgänge bekanntlich zum Gegenstande umfassender, grundlegender Untersuchungen gemacht hat, hat dadurch zuerst Aufklärung gegeben über die wichtige allgemeine Rolle, die den Bakterien in dem Haushalte der Natur zugewiesen ist. Das organische Leben producirt fortlaufend Massen von complicirten stickstoffhaltigen Verbindungen. Den Bakterien fällt die Aufgabe zu, diese complicirten Verbindungen in einfachere, in einfachste, anorganische, für die höhere Pflanzenwelt assimilirbare Verbindungen überzuführen; die Pflanzenwelt sorgt dann ihrerseits im Verein mit der Thierwelt wieder für den Aufbau des complicirt zusammengesetzten Eiweissmoleküls aus diesen einfachsten Verbindungen. So dienen die Bakterien als Vermittler orga-

---

[1]) In Ausnahmefällen können auch bei Sauerstoffanwesenheit stinkende Producte bei der Zerlegung der Eiweisskörper durch Bakterien entstehen.

[2]) Nach Behring sind mit der stinkenden Fäulniss stets Reductionsprocesse verbunden.

[3]) Bei der Verwesung beerdigter Körpertheile im Boden kommt es zu erheblichen Temperatursteigerungen im Innern der verwesenden (resp. faulenden) Organe, die besonders dann beträchtlich werden, wenn es sich um Organe handelt, die von (gewissen) Infectionskrankheiten herstammen. (cf. Schottelius, Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 9; Karlinski, ebenda, Bd. 9. 1891. No. 13.)

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 434. In Fleischbrei, welcher bei 0° C. gehalten wurde, fand Forster nach 16 Tagen (neben unzähligen Bakterien) etwa ebensoviel Zersetzungsproducte wie in dem gleichen Fleische, welches 6—7 Tage bei 7—9° C. oder 2 Tage bei Zimmertemperatur gehalten worden war.

nischen Sterbens und Lebens; durch ihre Mitwirkung wird es ermöglicht, dass die organische Welt im Gleichgewichte bleibt.

Von ganz besonderer Bedeutung sind die geschilderten Verhältnisse für die Landwirthschaft. Wenn das Feld gedüngt ist, so müssen die complicirten organischen Verbindungen, welche der Dünger enthält, zunächst durch einen durch Bakterien bedingten Verwesungsvorgang in die einfachsten, für die Pflanzen assimilirbaren Verbindungen übergeführt werden. Dies kann, wie erörtert, nur unter Sauerstoffzutritt geschehen; und es ist deshalb eine Auflockerung des Erdreiches resp. eine grobporige Bodenbeschaffenheit erforderlich, damit nicht nur an der Oberfläche des Bodens, sondern auch mehr in die Tiefe hinein der Sauerstoff Zutritt hat. Ein gewisser Wassergehalt des Bodens ist zum Zustandekommen der Verwesungsprocesse natürlich erforderlich; denn ohne Wasser können Bakterien nicht wachsen; ein zu grosser Wassergehalt aber würde die Bodenporen verschliessen und die Entstehung von Fäulniss im Boden bedingen.[1]) Der wichtigste Theil des Verwesungsvorganges im Boden wird durch die sogenannte „Nitrification“ dargestellt. Man versteht darunter die Oxydirung des (organischen) Stickstoffs resp. Ammoniaks zu Salpetersäure. Schlösing und Müntz wiesen (1877) zuerst nach, dass die Nitrification im Boden von der Lebensthätigkeit organischer Wesen abhängig ist. Nach Winogradsky[2]) setzt sich der Nitrificationsprocess aus zwei verschiedenen Perioden zusammen, nämlich 1) der Periode der Nitritbildung und 2) der der Nitratbildung. Jede Periode spielt sich ab unter dem Einflusse specifischer, für die beiden Perioden verschiedener, organisirter Fermente (Bakterien). Die Entwickelung und Wirkung der Nitritbildner (ferments nitreux) ist auf Gegenwart von Ammoniak angewiesen: diese Organismen oxydiren das Ammoniak zu Nitrit. Die Nitratbildner (ferments nitriques) können in Gegenwart von Ammoniak nicht existiren; sie oxydiren Nitrite zu Nitraten.[3])

Die chemische Reaction des Nährbodens wird durch Bakterien-

---

[1]) cf. E. Wollny, Ueber die Beziehungen der Mikroorganismen zur Agricultur. Centr. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 15—16.

[2]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 599.

[3]) Die künstliche Reinzüchtung der „Nitrobakterien“ gelingt nach Winogradsky (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. No. 2) auf einem festen Nährboden, welcher aus einer Lösung von Wasserglas (Natriumsilicat) unter Zusatz verschiedener Salze hergestellt wird. — Die Kieselsäure als Nährboden für Mikroorganismen wurde zuerst von W. Kühne (Zeitschr. f. Biol. Bd. 27. 1890) angegeben. Siehe über die Bereitung derartiger Nährböden auch Sleskin (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. No. 7).

wachsthum fast stets geändert. Man kann danach die Bakterien in solche eintheilen, welche Säuren, und in solche, welche Alkalien produciren. [1])

Unter den chemischen Körpern, welche (als Stoffwechselproducte) bei dem Lebensprocesse der Bakterien entstehen, nehmen eine besondere Stellung ein die sogenannten Fäulnissalkaloide, complicirte stickstoffhaltige Verbindungen basischer Natur, die zum Theil giftig, zum Theil ungiftig sind. Diese Körper werden (nach Selmi) als „Ptomaïne" (πτωμα = Leichnam) bezeichnet, da sie zunächst namentlich in gefaulten Leichentheilen gefunden wurden. Nencki war (1876) der Erste, welcher einen derartigen Körper in reinem, krystallinischen Zustande darstellte und seine chemische Zusammensetzung ermittelte. In der Folge hat sich um die Erforschung dieses Gebietes besonders L. Brieger verdient gemacht. Eine ganze Reihe von Körpern, welche hierher gehören, sind von Brieger sowohl aus künstlichen Culturen bestimmter (meist pathogener) Bakterienarten wie auch aus Thierorganismen, welche mit bestimmten Bakterienarten inficirt waren, dargestellt worden. Für die giftigen Ptomaïne hat Brieger den Namen „Toxine" eingeführt. Eine Gruppe anderer giftiger Stoffwechselproducte pathogener Bakterienarten, welche keine Alkaloide, sondern Eiweisskörper sind und als Toxalbumine bezeichnet werden, haben Brieger[2]) und C. Fraenkel entdeckt.

Die genannten giftigen Stoffwechselproducte spielen eine wesentliche Rolle bei jeder durch Bakterien veranlassten Infectionskrankheit. Auf die durch sie bedingte Intoxication des thierischen Organismus sind namentlich die allgemeinen klinischen Symptome, welche bei Infectionskrankheiten beobachtet werden, zu beziehen. Wir werden dieses Gebiet weiterhin noch zu betrachten haben.

---

[1]) cf. J. Petruschky, Bakterio-chemische Untersuchungen. Centr. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 23—24, Bd. 7. 1890. No. 1—2. Der Autor stellte seine Untersuchungen an einer neutralen Lackmusmolke (mit Lackmus gefärbtes Milchserum) an. (Der Lackmuszusatz zu bakteriologischen Nährböden behufs Erkennung der Aenderung der chemischen Reaction des Nährbodens ist von H. Buchner [Arch. f. Hyg. Bd. 3. 1885] zuerst angegeben.) Es kommt bezüglich der unter dem Einflusse von Bakterienwachsthum sich ausbildenden Reaction die ursprüngliche Zusammensetzung des Nährbodens sehr in Betracht. Kleine Mengen von Traubenzucker im Nährboden geben häufig, auch bei alkalibildenden Bakterienarten, zu einem primären Auftreten von freier Säure Veranlassung. (Behring, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 178.) Auf den gewöhnlichen, mit Peptonbouillon hergestellten, zuckerfreien Nährböden bilden von bekannten Arten nur der Milzbrandbacillus, der Micrococcus tetragenus, der Wurzel- und der Heubacillus Säure, die übrigen Alkali (v. Sommaruga, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 277, 278).

[2]) Berl. klin. Woch. 1890. No. 11—12.

Es ist aber hier gleich zu bemerken, dass bei dem Wachsthum der Bakterien nicht nur giftige Stoffwechselproducte, sondern auch andere giftige Körper entstehen. Es sind dies solche Körper, welche sich nicht wie die Stoffwechselproducte ausserhalb der Bakterienzellen in den Nährsubstraten gelöst befinden, sondern die im Innern der Bakterienzellen selbst vorhanden sind, ohne Zweifel einen wesentlichen Theil der Zelle ausmachen und gewöhnlich nur durch ganz besonders eingreifende chemische Manipulationen (durch die die Zelle jedesmal abgetödtet wird) aus der Zelle extrahirt werden können. Man bezeichnet diese (eiweissartigen) Körper als „Bakterienproteïne."

Zu den Lebensäusserungen der Bakterien gehört auch die Production von Farbstoffen (cf. oben p. 9), welche z. Th. von ausserordentlicher Schönheit sind. Man nennt die Farbstoff producirenden Bakterienarten chromogene Arten (Pigmentbakterien). Andere Arten lassen den (durchsichtigen) Nährboden prachtvoll fluoresciren; wieder andere leuchten in ihren Culturen im Dunkeln (phosphoresciren).

Zu den Lebensäusserungen der Bakterien gehört endlich die Eigenthümlichkeit vieler Arten, im Thier- (oder Pflanzen-) Körper Krankheitsprocesse hervorzurufen. Wir werden die hierher gehörigen Verhältnisse zum Gegenstande einer besonderen eingehenden Betrachtung machen.

IV.

Allgemeine Methodik der Bakterienbeobachtung.



1. Die Ausrüstung des Arbeitstisches.

Wenn man sich mit Bakterienuntersuchungen beschäftigen will, so braucht man zunächst eine Reihe von Instrumenten, unter denen das Mikroskop das wesentlichste ist.

Das Mikroskop besteht aus einem optischen und einem mechanischen Theile. Von diesen ist der optische Theil der wichtigere, und man wird daher bei der Beschaffung eines Mikroskopes zunächst auf eine zweckentsprechende Beschaffenheit dieses Theiles zu sehen haben. Der optische Theil des Mikroskopes setzt sich aus einem Beobachtungsapparat, bestehend aus Objectiv und Ocular, und aus einem Beleuchtungsapparat, bestehend aus Beleuchtungsspiegel und Condensorsystem, zusammen. Die genannten optischen Stücke werden durch das sogenannte Stativ in Verbindung mit einander gebracht. Ihre Stellung zu einander kann durch besondere mechanische Einrichtungen, welche sich an dem Stative vorfinden, je nach dem vorliegenden Bedürfnisse modificirt werden. Es ist nun zwar richtig, dass auch mit einem mangelhaften Stative, falls nur der optische Theil des Mikroskopes gut ist, gearbeitet werden kann. Wer geschickt ist, kann sich für bestimmte Zwecke vorübergehend mit einem derartig mangelhaften Instrumente behelfen. Wer aber nicht nur vorübergehend mit dem Mikroskope arbeiten, wer Freude am mikroskopischen Arbeiten haben will, wer ein universell anwendbares Instrument braucht, der darf nicht bloss auf den optischen Theil des Mikroskopes Rücksicht nehmen, sondern er muss darauf sehen, dass auch das Stativ den modernen Anforderungen genüge. Beiden Bedingungen, nämlich den optischen sowohl wie den mechanischen, genügen nur die Mikroskope leistungsfähigster Werkstätten, sogenannter

„erster Firmen“.[1]) Man lasse sich nicht durch den niedrigeren Preis verleiten, ein Mikroskop zu kaufen, an welchem man hinterher beim Gebrauch einen Fehler nach dem anderen entdeckt.

Bei der Anschaffung eines Mikroskopes, welches zu Bakterienuntersuchungen bestimmt ist, sind nun eine Reihe von speciellen Punkten zu berücksichtigen. Von Objectiven braucht man mindestens zwei, nämlich ein schwaches (Zeiss AA, Leitz 3) und ein starkes (Zeiss Oel-Immersion 2 mm oder $^1/_{12}''$, Leitz Oel-Immersion $^1/_{12}''$), von Ocularen ebenfalls zwei (Zeiss 2, 4, Leitz 1, 4). Man hat so schwache Vergrösserungen von ca. 50—100 und starke von ca. 500—1000 zur Verfügung. Sehr angenehm ist daneben noch der Besitz eines mittleren Objectives (Zeiss DD, Leitz 7), welches ca. 200—450 fache Vergrösserung giebt. Der Tubus soll sowohl durch groben Trieb wie durch Mikrometerschraube verstellbar sein. Der Objecttisch darf nicht zu klein sein, so dass man Culturplatten bequem untersuchen kann. Das Condensorsystem, welches zur Beleuchtung der Objecte dient, soll nach der von Abbe (cf. weiter unten) angegebenen Weise construirt und auf- und abwärts (am besten durch Trieb) verschieblich sein; der Beleuchtungsspiegel soll in seinem Durchmesser den des Abbe'schen Beleuchtungskörpers etwas überschreiten. Sehr nothwendig, kaum zu entbehren für Bakterienuntersuchungen, ist eine Vorrichtung zum schnellen und bequemen Wechseln der Objective (Revolver).

Das wesentlichste und bedeutendste Stück des gesammten Mikroskopes ist das „Oel-Immersions-System“, das Objectivsystem, welches wir stets benutzen, wenn es sich um eine möglichst stark vergrösserte Darstellung des Objectes handelt. Bei diesem System wird die Oberfläche des Deckglases des Präparates mit der Front-

---

[1]) Allen voran schreitet die Firma Carl Zeiss in Jena. Diese Firma lässt sich die höchsten Preise bezahlen; sie liefert aber auch das Beste. Die sogenannten „Apochromat-Objective“ von Zeiss sind das Vollendetste, was von Objectiven existirt. Ebenso wird die Firma hinsichtlich der übrigen optischen Theile der Mikroskope sowie hinsichtlich der Stative von keiner anderen Firma übertroffen. Neben Zeiss sind ferner zu nennen Ernst Leitz in Wetzlar (die äusserst preiswerthen Instrumente dieser Firma, welche sich in der Form an die Zeiss'schen anlehnen, werden für die Zwecke bakteriologischer Untersuchung sehr viel verwendet), W. & H. Seibert in Wetzlar, Dr. E. Hartnack in Potsdam, C. Reichert in Wien und Andere.

Eine ständige Ausstellung der Instrumente der genannten Firmen findet man in dem „Magazin für Mikroskopie“ von G. König, Berlin N.W., Dorotheenstr. 29, welches bezüglich der Anschaffung jede gewünschte Auskunft ertheilt und die Instrumente zu Fabrikpreisen abgiebt. Hier findet man auch alle übrigen für unsere Zwecke nothwendigen Utensilien, Farbstoffe etc.

linse des Objectivs stets verbunden durch ein Tröpfchen eines Oeles (Cedernöl), welches dasselbe Brechungsvermögen für das Licht (denselben Brechungs-Exponenten) besitzt wie das Glas. Es wird also zwischen Deckglas und Objectivfrontlinse durch das dazwischen gebrachte Cedernöl eine optisch homogene Verbindung hergestellt („Homogene Immersion"). Die von dem Objecte ausgehenden Strahlen gelangen ohne irgend welche Ablenkung in das Objectiv. Es gelangt also ein viel grösserer von dem Objecte ausgehender Strahlenkegel zur Wirkung, als es ohne die Zwischenlage des Cedernöles der Fall sein würde, d. h. das Leistungsvermögen eines solchen Objectivs (das Abbildungs- oder Auflösungsvermögen[1]) muss viel grösser sein als das Leistungsvermögen eines Systems von derselben Vergrösserung, bei welchem sich zwischen Deckglas und Objectiv eine Luftschicht befindet („Trockensystem"); das Leistungsvermögen muss auch grösser sein als das eines Systems, welches nur Wasser als Immersions-Flüssigkeit verwendet („Wasser-Immersions-System"). [2]) —

---

[1]) Man versteht hierunter die Fähigkeit mikroskopischer Objective, feine Structuren, Details innerhalb der Objecte zur Darstellung zu bringen. Das Abbildungsvermögen hat seinen Sitz einzig und allein in der Function der Oeffnung des Objectivsystems. Es steht unter allen Umständen in geradem Verhältnisse zu der numerischen Apertur (siehe die folgende Anmerkung).

[2]) Die in ein Objectivsystem tretende Strahlenmenge wird gemessen durch den Oeffnungswinkel des Systems. Der Oeffnungswinkel hat seinen Scheitel im Brennpunkte des Systems; seine Schenkel werden gebildet durch zwei einander gegenüberliegende Mantellinien des von dem Brennpunkte ausgehenden, in das System eintretenden Strahlenkegels. Der Oeffnungswinkel kann naturgemäss niemals den Grenzwerth von 180° erreichen. Die Brechungsverhältnisse, welche bei Benutzung eines Trockensystems an der Oberfläche des Deckglases statthaben, bringen es nun mit sich, dass einem von dem Deckglase ausgehenden, die Luft durchsetzenden Strahlenkegel von bestimmter (beispielsweise von 180°) Weite ein erheblich engerer ursprünglich von dem Objecte ausgehender, das Deckglas durchsetzender Strahlenkegel entspricht; der letztere würde, den Brechungsexponenten des Glases zu 1,52 gerechnet, in unserem Beispiele nur 82° 17′ Weite haben. Da nun bei der homogenen Immersion eine jede Ablenkung der Strahlen zwischen Object und Objectiv wegfällt, so nimmt ein Oel-Immersions-System mit einem Oeffnungswinkel von 82° 17′ genau dieselbe Strahlenmenge auf wie ein ideales (übrigens praktisch unmögliches) Trockensystem mit einem Oeffnungswinkel von 180°. Die blosse Angabe des Oeffnungswinkels eines Systems ohne Angabe, ob es sich um ein Trockensystem, um Wasser- oder Oel-Immersion handelt, giebt also keinen Ausdruck für die Leistungsfähigkeit des Systemes. Aus diesem Grunde hat Abbe den Begriff der „numerischen Apertur" geschaffen. Derselbe berücksichtigt zu gleicher Zeit den Oeffnungswinkel und den Brechungsexponenten des zwischen Deckglas und Objectivfrontlinse befindlichen Mediums. Man erhält die numerische Apertur, wenn man den genannten Brechungsexponenten mit dem Sinus des halben Oeffnungswinkels multiplicirt. Der Grenzwerth der numerischen Aperturen beträgt, wie sich aus dem Gesagten leicht ableiten

Die Immersions-Methode ist von Amici, die homogene Immersion von Stephenson erfunden. Die ersten derartigen Objective wurden von Abbe[1]) und Zeiss construirt.

Ausser dem Mikroskope brauchen wir für die Bakterienbeobachtung resp. für die Darstellung von Bakterienpräparaten eine Reihe von Utensilien, deren nothwendigste etwa folgende sind:

Objectträger. Dieselben sollen von weissem Glase, etwa 1,2 mm (jedenfalls nicht über 1,5 mm) dick sein. Das gangbarste Format ist das sogenannte englische (26:76 mm).

Objectträger mit hohlem Ausschliff (hohlgeschliffene Objectträger).

Deckgläser. Man benutzt am bequemsten quadratische Deckgläser von 18 mm Seitenlänge. Die Dicke soll etwa 0,15—0,17 mm betragen. Sind die Deckgläser mehrere Hundertstel Millimeter dicker, so gelingt es oft bei Schnitten nicht mehr, das Object mit starken Objectiven in allen seinen Theilen einzustellen; sind sie dünner, so zerbrechen sie zu leicht beim Reinigen[2]) etc.

Flaschen, Glasschälchen, Glastrichter von verschiedener Grösse.

Weite Standgefässe von Glas mit eingeschliffenem Stöpsel zum Härten von Organstücken.

Kleine Glasflaschen mit weitem Hals und übergreifendem aufgeschliffenem glockenförmigem Verschluss zur Aufnahme von Cedernöl und Canadabalsam. Nach Abnahme des Verschlusses sieht ein kleiner, frei in der Flasche stehender Glasstab zur Flaschenöffnung heraus, mit Hülfe dessen die genannten Flüssigkeiten tropfenweise herausgenommen werden können.

Zwei Glasmensuren von 10 und 100 ccm Inhalt.

Uhrschälchen von c. 60 mm Durchmesser.

Mehrere, kleinere und grössere, nicht zu stark federnde[3]) Pincetten.

---

lässt, für Trockensysteme 1,0, für Wasser-Immersionen 1,33, für homogene Immersionen 1,52.

[1]) Abbe: Ueber Stephenson's System der homogenen Immersion bei Mikroskop-Objectiven. (Sitz.-Ber. d. Jenaischen Gesellsch. f. Med. u. Naturwiss. 10. Januar 1879.)

[2]) Die Deckgläser werden von Staub etc. am besten so gereinigt, dass man sie (in grösseren Mengen) zunächst mit Alkohol übergiesst, den man dann von den einzelnen Gläschen mit dem Lappen wegwischt. Gewöhnlich bleiben auf den Deckgläsern auch bei dieser Behandlung mit Alkohol noch Spuren von Fett zurück; dieselben werden am besten durch Erhitzen der Gläser in der nicht leuchtenden Flamme des Bunsen'schen Brenners entfernt.

[3]) Mit stark federnden Pincetten ist das Arbeiten, speciell das Halten der Deckgläser etc., ein ausserordentlich unbequemes.

Eine sich auf Druck öffnende (sogenannte Cornet'sche) Deckglaspincette.

Skalpells, Scheren.

Feine Nähnadeln, Nadelhalter.

Ein kleiner Messingspatel, dessen Ebene man etwa 2 cm vom Ende entfernt stumpfwinklig umbiegt.

Platindrähte, nicht zu dünn, etwa 60—70 mm lang, an Glasstäben angeschmolzen, z. Th. mit ösenförmig gebogenem Ende.

Bunsenbrenner oder Spirituslampe.

Fliesspapier, Tuschpinsel, Leinwandlappen, Präparatenetiketts, Cartons resp. Kästchen zur Aufnahme von Präparaten u. s. w.

Sehr angenehm ist es ferner, ein gutes Mikrotom zur Hand zu haben. Hier sind besonders die Instrumente der Firmen Jung in Heidelberg, Schanze in Leipzig, Becker in Göttingen zu nennen. Die von Schanze (Weigert'sches Mikrotom) sind die compendiösesten und für unsere Zwecke gebräuchlichsten. Der wichtigste Theil des Mikrotoms ist das Messer, auf dessen Instandhaltung man die grösste Sorgfalt verwenden muss. Bei dem Mangel eines Mikrotoms kann man sich auch mit einem guten Rasirmesser, dessen Klinge auf der einen Seite plan geschliffen ist, behelfen.

Ausserdem brauchen wir eine Reihe von Chemikalien, deren wichtigste nachstehend aufgeführt sind:

Destillirtes Wasser.
Alcohol absolutus.
Äther.
Chloroform.
Xylol.
Officinelle Salz-, Salpeter- und Schwefelsäure.
Eisessig (Essigsäure).
Kali aceticum.
Kali- oder Natronlauge.
Ammoniak.
Jod.
Jodkalium.
Glycerin.
Anilin (Anilinöl).
Carbolsäure (Phenol).
Cedernöl.
Nelkenöl.
Canadabalsam.
Gummi arabicum.
Celloidin.
Vaselin.
Verschlusslack.

Farbstoffe: Carmin, Pikrinsäure, Eosin, Methyl- oder Gentianaviolett, Fuchsin, Methylenblau, Bismarckbraun (Vesuvin).

Die Chemikalien, namentlich die flüssigen, bewahren wir in Glasflaschen mit Glasstöpsel auf.

Der Arbeitstisch, an welchem wir mikroskopiren, entspricht in seiner Höhe einem gewöhnlichen Schreibtische. Der Arbeits-

stuhl soll so hoch sein, dass wir, auf demselben sitzend, bequem in das vertikal aufgestellte Mikroskop hineinsehen können. Die modernen besseren Mikroskope sind zwar sämmtlich mit Einrichtung zum „Umlegen“ versehen. Von dieser Einrichtung wird speciell für mikrophotographische Zwecke ein ausgedehnter Gebrauch gemacht. Hier stellt man den Tubus des Mikroskopes gewöhnlich horizontal. Eine geringe Schrägstellung des Mikroskoptubus ist sehr angenehm für die Beobachtung; sie kann aber in der Regel nur dann zur Anwendung gelangen, wenn es sich um die Durchmusterung fertiger, fester Präparate handelt. Während des eigentlichen mikroskopischen Arbeitens, wo es sich stets um mehr oder weniger flüssige resp. verschiebliche Objecte handelt, wird man den Objecttisch stets in horizontaler, den Tubus also in vertikaler Stellung belassen müssen.

2. Beobachtung der Bakterien im lebenden Zustande. Der hängende Tropfen. Wirkungsweise des Abbe'schen Beleuchtungsapparates.

Wenn es sich darum handelt, irgend welche Bakterien zu untersuchen, so muss man sich zunächst, wenn es irgend ausführbar ist, ein Bild von dem Aussehen derselben im frischen, lebenden Zustande zu verschaffen suchen. Denn nur am lebenden Material kann man Aufschluss erhalten über die Frage, ob Eigenbewegung da ist oder nicht, nur im frischen Zustande kommen etwaige Unterschiede in dem Lichtbrechungsvermögen verschiedener Theile der Bakterienzelle zum Ausdruck, nur im frischen Zustande kann man über die Art der Zusammenlagerung der Bakterien in grösseren Verbänden (Zooglöen etc.) Genauestes erfahren. Ausgeschlossen ist freilich die Beobachtung lebender Bakterien in situ in Schnitten thierischer Organe. Wir werden weiterhin noch sehen, dass man zur Sichtbarmachung ungefärbter, in situ befindlicher Bakterien in Schnitten die letzteren so eingreifenden Manipulationen unterwerfen muss, dass von einem weiteren Fortbestande des Lebens der Bakterien dabei keine Rede sein kann. Will man die in thierischen Organen enthaltenen Bakterien lebend untersuchen, so muss man Theilchen der frischen Organe mit Wasser oder indifferenten Flüssigkeiten (0,75 proc. Kochsalzlösung, Bouillon) zerreiben, um dadurch die Bakterien, von den Körperzellen isolirt, in der Flüssigkeit suspendirt zu erhalten.

Die mikroskopische Beobachtung lebender Bakterien ist also auf bakterienhaltige Flüssigkeiten beschränkt, die entweder bereits fertig vorliegen, oder die man sich durch Verreiben bakterienhaltigen

Materials in wässrigen Flüssigkeiten erst herstellt. Will man sich zunächst übungsweise mit diesen Dingen beschäftigen, so empfiehlt es sich, Scheiben gekochter Kartoffeln, welche in der weiter unten zu besprechenden Weise hergestellt sind, einige Stunden der Luft auszusetzen und dann in der feuchten Kammer einige Tage lang bei Zimmertemperatur stehen zu lassen. Es haben sich dann aus den einzelnen Keimen, welche aus der Luft auf die Kartoffel nieder gefallen sind, Colonien von Bakterien entwickelt, welche als an Höhe, Flächenausdehnung, Farbe mehr oder weniger verschiedene Häufchen erscheinen. Ein jedes Häufchen zeigt sich dann aus Individuen einer bestimmten Art resp. Form zusammengesetzt. Durch Verrühren kleinster Quantitäten solcher Bakteriencolonien in einem Tröpfchen Wasser oder Aehnlichem lassen sich dann für die mikroskopische Beobachtung geeignete Objecte herstellen. Weiter empfiehlt es sich, etwas Heu, Reis, Erbsen, Brot, Fleisch oder Aehnliches mit Wasser zu versetzen und die resp. Infuse mehrere Tage lang an einem warmen Orte stehen zu lassen. Es entwickelt sich dann in den Infusen ein mehr oder weniger reiches Bakterienleben, und jedes Tröpfchen solcher Flüssigkeiten bietet ein ausgezeichnetes Object für das Studium von Bakterien im lebenden Zustande.

Die Methode, deren man sich zur mikroskopischen Untersuchung lebender, in Flüssigkeiten suspendirter Bakterien fast ausschliesslich bedient, ist die des hängenden Tropfens.

Um ein derartiges Präparat anzufertigen, nimmt man zunächst einen hohlgeschliffenen Objectträger, dessen Höhlung man mit gelbem Vaselin mittels eines Tuschpinsels umzieht, und den man dann vorläufig bei Seite legt. Nun wird ein reingeputztes (cf. p. 46) Deckglas horizontal auf den Tisch gelegt und mittels der Platinöse ein kleines Tröpfchen der bakterienhaltigen Flüssigkeit auf die Mitte des Deckglases gebracht; hat man keine bakterienhaltige Flüssigkeit, sondern mehr consistente Culturen oder frische Thierorgane etc. vor sich, so bringt man, wie oben bereits besprochen, zunächst ein Tröpfchen reines Wasser[1]), Kochsalzlösung oder Bouillon mit der Platinöse auf das Deckglas und verreibt dann (am besten mittels eines gerade endenden Platindrahtes) in dem Tröpfchen eine Spur der Bakterienmasse resp. des Organs, um eine Suspension der Bakterien in der

[1]) Das destillirte Wasser, wie es in den Laboratorien vorräthig gehalten wird, ist, besonders wenn es bereits eine Reihe von Wochen bei Zimmertemperatur gestanden hat, für diesen Zweck nicht zu empfehlen, da es gewöhnlich zu zahlreiche Bakterien enthält. Im Gegensatz dazu ist gutes Leitungs- oder Brunnenwasser sehr arm an Keimen und deshalb für den vorliegenden Zweck sehr gut zu brauchen.

Flüssigkeit zu erhalten. Hierbei sehe man darauf, dass man möglichst wenig, wirklich nur Spuren der Bakterienmasse etc. in der Flüssigkeit vertheilt, weil es sonst sehr schwer, häufig unmöglich wird, die Individuen mikroskopisch isolirt zu Gesicht zu bekommen und sich von ihrer Form etc. ein Bild zu verschaffen.

Nachdem der Tropfen hergestellt ist, wird der hohlgeschliffene Objectträger, die Höhlung nach unten gekehrt, mittels des Vaselins so auf das Deckglas geklebt, dass das bakterienhaltige Tröpfchen genau in der Mitte des Ausschliffs liegt. Nun wird der Objectträger rasch (um ein Zerfliessen des Tröpfchens zu vermeiden) umgekehrt, und das Präparat ist dann zur Beobachtung fertig. Das Tröpfchen hängt, zur Beobachtung bereit, vor Verdunstung geschützt, frei am Deckglase.

Die Platindrähte werden vor und nach jedesmaligem Gebrauche ausgeglüht; bevor man sie nach dem Ausglühen anwendet, muss man sie wieder erkalten lassen.

Um den hängenden Tropfen mikroskopisch zu untersuchen, verfährt man am besten so, dass man zunächst mit schwachem Objectivsystem den Rand des Tropfens aufsucht, um diesen Rand nachher der Beobachtung bei starker Vergrösserung zu unterwerfen. Sehr bequem und fast unentbehrlich hierfür ist die zum schnellen Wechseln der Objective bestimmte, oben (p. 44) erwähnte Revolvervorrichtung, welche den besseren Mikroskopen heutzutage als integrirender Bestandtheil stets beigegeben wird. Den Rand des Tropfens wählt man zur Untersuchung mit starken Vergrösserungen einestheils deshalb, weil der Tropfen am Rande am dünnsten ist, und sich Objecte, die eine möglichst dünne Schicht repräsentiren, zur Untersuchung mit stark vergrössernden Objectiven naturgemäss am besten eignen; anderntheils bietet der Rand des Tropfens wegen seiner Dünne den einzelnen Bakterienindividuen keinen so weiten Spielraum zum Durcheinanderschwirren etc. wie die übrigen Theile des Tropfens; man wird also am Rande die Formen, um die es sich handelt, gewöhnlich zum Theil in Ruhe liegen sehen, während man, nach der Mitte des Tropfens zu weitergehend, das Bakterienleben allmählich immer mehr in dem natürlichen, durch die Capillaritätsverhältnisse des Randes unbeeinflussten Lagerungs- und Bewegungszustande erblickt.

Dem Anfänger nicht geringe Schwierigkeiten verursacht nun das Einstellen des Präparates. Es handelt sich dabei um dreierlei verschiedene Dinge: erstens soll die richtige Stelle des Objectes zur Einstellung gelangen; zweitens soll das Bild des Objectes dem Auge scharf erscheinen, d. h. das Objectiv des Mikroskopes soll

den richtigen Abstand vom Objecte haben; drittens soll die Beleuchtung des Objectes die richtige, zweckentsprechende sein.

Die ersten beiden Punkte sind relativ leicht zu erledigen. Man muss den mittleren Abstand der verschiedenen Objective vom Objecte ungefähr kennen; man stellt die Objectebene dann zunächst mit schwachem Objectiv unter Benutzung des groben Tubustriebes ein und rückt das Präparat dann mit der Hand so, dass die zu untersuchende Stelle, in unserem Falle also eine Stelle des Tropfenrandes, genau in die Mitte des Gesichtsfeldes kommt. Mit Vortheil wird man sich hierbei eines schwachen Oculars bedienen. Ist die richtige Stelle des Präparates centrisch eingestellt, so geht man mit dem Tubus unter Benutzung des groben Triebes etwas nach oben, wechselt dann unter Benutzung des Revolvers das schwache System gegen das Immersionssystem um, bringt auf das Deckglas centrisch einen kleinen Tropfen Cedernöl und schraubt nun mit Hülfe des groben Triebes den Tubus so lange abwärts, bis die Frontlinse des Immersionssystemes in das Oel eintaucht. Dies letztere beobachtet man von der Seite her; man muss dazu die Augen etwa in Höhe des Objecttisches bringen. Ist die Oelverbindung zwischen Deckglas und Objectiv hergestellt, so schraubt man den Tubus wieder etwas in die Höhe, ohne jedoch die Oelverbindung zu zerreissen, und bringt nun das Auge wieder über das Ocular. Man schraubt nun (am besten, indem man beide Hände an die Schraube des groben Triebes bringt), während man in das Mikroskop hineinsieht, den Tubus ganz langsam und vorsichtig nach abwärts, bis das Bild erscheint; in diesem Augenblick lässt man den groben Trieb los und bewirkt nun die feinere Einstellung mit Hülfe der Mikrometerschraube. [1])

Die genannten Manipulationen, welche die richtige Einstellung des Präparates und des Objectives zum Zwecke haben, setzen jedoch eine richtige, zweckmässige Beleuchtung voraus. Ohne dass man die

---

[1]) Von vornherein gewöhne man sich, das Auge, welches beim mikroskopischen Sehen unbetheiligt ist, während des Mikroskopirens offen zu halten. Nur ganz zu Anfang wird man durch das von diesem Auge percipirte Bild etwas gestört; bei einiger Uebung kommt Einem dieses Bild gar nicht mehr zum Bewusstsein. Es ist aber ein nicht hoch genug anzuschlagender Vortheil mit der Befolgung dieses Rathes verbunden. Beim mikroskopischen Sehen soll nämlich, damit das Auge von unnützer Anstrengung möglichst frei, das Arbeiten ein möglichst bequemes sei, die Accommodation völlig erschlafft sein, das Auge soll auf die Ferne eingestellt sein. Eine völlige Erschlaffung der Accommodation ist aber nur dann zu erreichen, wenn die gesammte Augenmuskulatur sich im Zustande der Ruhe befindet, wenn also auch der Schliessmuskel des anderen Auges ausser Thätigkeit ist.

Beleuchtung, wenigstens annähernd, zunächst regulirt hat, sind diese Manipulationen z. Th. gar nicht ausführbar. Wir müssen uns deshalb mit der Beleuchtung etwas eingehender beschäftigen.

Der Beleuchtungskörper des modernen Mikroskopes besteht, wie bereits erwähnt, aus einem Spiegel, welcher die Strahlen der Lichtquelle auffängt, und aus einem Linsensystem (Abbe'scher Beleuchtungsapparat), in welches hinein die Strahlen von dem Spiegel aus geworfen werden, um schliesslich auf einer relativ kleinen Stelle des Objectes concentrirt zu werden. Es ist nun, wie uns Rob. Koch[1]) gelehrt hat, das erste Erforderniss zum Zustandekommen eines guten Bildes — dies gilt für jeden einzelnen Fall, wie auch die Verhältnisse im Uebrigen liegen mögen —, dass die von der Lichtquelle ausgehenden Strahlen in der Objectebene vereinigt werden, d. h. dass ein möglichst scharfes Bild der Lichtquelle in der Objectebene entsteht. Wenn ich mit schwachem Systeme das Object scharf eingestellt habe, so muss ich also den Beleuchtungskörper meines Mikroskopes so disponiren, dass ich ausser dem körperlich vorhandenen Objecte noch das (reelle) durch den Beleuchtungskörper in das Object projicirte Bild der Lichtquelle erblicke. Ist die Lichtquelle vom Mikroskope weiter entfernt, wird sie z. B. durch weisse Wolken dargestellt, so liegt der Vereinigungspunkt ihrer Strahlen näher an der oberen Linse des Abbe'schen Apparates, als wenn die Lichtquelle näher am Mikroskope steht, z. B. durch die Flamme einer auf dem Tische stehenden Petroleumlampe[2]) repräsentirt wird. In dem ersteren Falle muss also der Abbe'sche Apparat höher, dem Präparate näher, im zweiten muss er tiefer, von dem Präparate weiter entfernt stehen. Diese Ueberlegung erweist die Nothwendigkeit, dass der Abbe'sche Apparat verschieblich sei.[3])

Es ist an dieser Stelle darauf aufmerksam zu machen, dass der Brennpunkt des Abbe'schen Apparates für parallel eintretende (d. h. z. B. von einer entfernten Wolke herkommende) Strahlen sehr nahe

---

[1]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 410.

[2]) Als Lichtquelle benutzt man bei Tage am besten eine helle Stelle des Himmels (weisse Wolken etc.). Directes Sonnenlicht ist für die Zwecke der Beobachtung nie zu benutzen. Bei Abend benutzt man als Lichtquelle am besten eine gewöhnliche Petroleumlampe (Studirlampe). Ein auf die obere Ocularlinse gelegtes oder im Blendungsträger angebrachtes schwach blaues (Cobalt-) Glas dämpft die gelben Strahlen der Flamme und erleichtert das Mikroskopiren bei Lampenlicht sehr.

[3]) Im Nothfalle kann das Abbe'sche Beleuchtungssystem durch eine unter der Tischöffnung angebrachte halbkuglige Linse, deren plane Seite nach oben gekehrt ist, und die, in einer Hülse gefasst, auf- und abwärts verschiebbar ist, ersetzt werden.

(in etwa 2 mm Entfernung) an seiner oberen Linse liegt.[1]) Damit die Strahlen aber wirklich parallel in den Abbe'schen Apparat eintreten, ist es nothwendig, dass wir die Strahlen der Wolke mit einem Planspiegel auffangen und sie dann in den Abbe'schen Apparat schicken. Das Mikroskop trägt nun in seiner Spiegelfassung gewöhnlich zwei Spiegel, nämlich einerseits einen Plan-, andrerseits einen Hohlspiegel. Würden wir den letzteren in unserem Falle anwenden, so würden wir dem Abbe'schen Apparate nicht parallele, sondern convergirende Strahlen zuschicken, und der Brennpunkt derselben würde naturgemäss dann noch viel näher an der oberen Linse des Abbe'schen Apparates liegen, d. h. so nahe, dass an ein Zusammenfallen dieses Brennpunktes mit der Objectebene — da doch unsere Objectträger eine gewisse Dicke haben müssen — nicht mehr zu denken wäre. Es ergiebt sich aus dieser Betrachtung ohne Weiteres die Nothwendigkeit, bei Benutzung des Abbe'schen Beleuchtungsapparates stets den Planspiegel, nie den Concavspiegel anzuwenden.[2])

Die Beleuchtung ist also, wenn wir zunächst mit schwachem Objective das Präparat betrachten, so einzurichten, dass wir den Planspiegel benutzen und den Abbe'schen Apparat in eine solche Höhe bringen, dass wir mit dem Bilde des scharf eingestellten Objectes zugleich ein möglichst scharfes Bild der Lichtquelle erblicken.

Nun bleibt aber noch ein sehr wesentlicher Punkt bezüglich der Beleuchtung zu berücksichtigen, d. i. die richtige Disponirung der unterhalb des Abbe'schen Condensorsystems, zwischen diesem und dem Beleuchtungsspiegel, befindlichen Blendungsvorrichtung.

Wenden wir den Abbe'schen Apparat ohne jede Abblendung an („offener Condensor"), so kommt die ganze Menge der in die

---

[1]) Die Firma C. Zeiss fertigt drei verschiedene Condensorsysteme an; dieselben unterscheiden sich in der Brennweite sowie in der numerischen Apertur (cf. oben p. 45, Anm. 2.) von einander. Die oben im Text gemachte Angabe bezieht sich auf den Condensor mit der Apertur 1,20; ausserdem wird ein Condensor von 1,40 num. Ap. und von etwas kürzerer Brennweite als der des vorhergehenden, endlich ein (achromatischer und centrirbarer) Condensor von 1,0 num. Ap. angefertigt. Der letztere dient hauptsächlich mikrophotographischen Zwecken, während die beiden erstgenannten hauptsächlich beim gewöhnlichen mikroskopischen Arbeiten benutzt werden. Für Arbeiten bei Lampenlicht ist im Allgemeinen der Condensor von 1,20 num. Ap. dem von 1,40 num. Ap. vorzuziehen.

[2]) Nur beim Beobachten mit ganz schwachen Objectiven, wo der Planspiegel — besonders bei Verwendung von Lampenlicht — oft nicht das ganze Sehfeld gleichmässig zu beleuchten erlaubt, ist es gestattet den Hohlspiegel zu verwenden, „welcher ausschliesslich für diesen Zweck am Apparat angebracht ist." (C. Zeiss, Gebrauchsanweisung für den Abbe'schen Beleuchtungsapparat.)

untere Linse desselben eintretenden Lichtstrahlen zur Wirkung auf das Object. Die kleine Stelle des Objectes, in welcher sich diese Lichtstrahlen vereinigen, wird dann mit Licht überschüttet, welches von allen einzelnen Punkten der obersten Linsenfläche des Abbe'schen Apparates herkommt. Da nun diese Linsenfläche eine ziemliche Ausdehnung hat und dem Vereinigungspunkte der von ihr ausgehenden Strahlen sehr nahe liegt, so besitzt der in das Object gelangende Strahlenkegel einen sehr stumpfwinkligen Scheitel. Die Randstrahlen dieses Kegels sind also den ihnen gegenüberliegenden Randstrahlen nahezu entgegengesetzt gerichtet und paralysiren dieselben in ihren Diffractionswirkungen nahezu vollständig. Handelt es sich nun um die Darstellung solcher Objecttheile, die sich nur durch Differenzen in dem Lichtbrechungsvermögen, nicht durch Differenzen in der Färbung von ihrer Umgebung unterscheiden, die also überhaupt nur durch Diffractionserscheinungen, welche an ihren Grenzen zu Stande kommen, sichtbar werden können, so ist naturgemäss der volle, unabgeblendete Abbe'sche Condensor nicht am Platze. Derselbe verhindert das Zustandekommen der Diffractionserscheinungen, d. h. er macht die ungefärbten Objecte mehr oder weniger unsichtbar. Wollten wir uns dagegen solche Objecttheile vor Augen führen, die sich durch die Färbung von ihrer Umgebung unterscheiden, so würden diese gefärbten Dinge, die für ihre Sichtbarkeit irgend welcher Diffractionserscheinungen nicht bedürfen, bei der geschilderten Beleuchtung in Folge der gleichzeitigen Auslöschung der Contouren der ungefärbten Objecttheile ganz besonders deutlich, isolirt zur Erscheinung gelangen.

Der Erste, welcher diese Verhältnisse erkannt, scharf definirt und für die Zwecke der practischen Mikroskopie brauchbar gemacht hat, war Rob. Koch.[1]) Die Beleuchtung mit vollem Abbe'schen Condensor vernichtet das „Structurbild“, isolirt das „Farbenbild“. Diese Beleuchtung wird also überall da am Platze sein, wo es sich um Darstellung gefärbter Theile des Objectes gegenüber ungefärbten handelt, z. B. bei der mikroskopischen Darstellung von gefärbten Bakterien, die in Schnitten thierischer Organe enthalten sind. Hier werden wir den vollen Abbe'schen Condensor, zumal wenn es sich um relativ (d. h. gegenüber den Gewebszellen) sehr kleine Bakterien handelt, nicht entbehren können; denn allein diese Beleuchtung löscht die Contouren der ungefärbten Gewebstheile

---

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig. 1878. p. 32 ff.

(die, wenn sie sichtbar sind, kleine gefärbte Bakterien sehr gut verdecken können) aus und lässt die gefärbten Theile dafür desto deutlicher hervortreten.

Wollen wir aber ungefärbte Objecte oder Objecttheile zur Anschauung bringen, so dürfen wir den vollen Abbe'schen Condensor nicht anwenden. Wir bringen dann ein Diaphragma mit ziemlich enger centraler Oeffnung (gewöhnlich einfach „enge Blende“ genannt) unter den Abbe'schen Beleuchtungsapparat. Es werden so die Randstrahlen abgeblendet, und es kommt dann auf das Object nur eine relativ kleine Menge centraler Lichtstrahlen, ein sehr spitzwinkliger Strahlenkegel, zur Wirkung; dieser unterscheidet sich in seiner Wirkung nicht wesentlich von einem Bündel paralleler Lichtstrahlen und lässt die Contouren ungefärbter Objecttheile deutlich zur Anschauung kommen.

Kehren wir nun zu unserem hängenden Tropfen zurück, so haben wir hier eine Flüssigkeit (Wasser etc.) vor uns, in welcher Bakterien suspendirt sind. Die Flüssigkeit sowohl wie die Bakterien sind ungefärbt. Die Darstellung der letzteren erfordert es also, die Beleuchtungsverhältnisse so einzurichten, wie sie zur Sichtbarmachung des „Structurbildes“ nothwendig sind; d. h. wir dürfen bei der Beobachtung des hängenden Tropfens nicht den vollen Abbe'schen Condensor anwenden, sondern müssen denselben durch eine enge Blende abblenden.[1])

Das Verfahren der mikroskopischen Einstellung des hängenden Tropfens würde sich also folgendermassen gestalten:

---

[1]) Die „enge Blende“ hat für verschieden starke Objectivsysteme verschiedene Weite. Da nämlich der maximale Beleuchtungskegel, den ein schwaches Objectiv aufzunehmen vermag, ein engerer ist als der, den ein stärkeres System aufzunehmen vermag, so ist der Abbe'sche Condensor für ein schwaches System bereits als „offen“, als unabgeblendet zu betrachten bei Anwendung einer Blendenweite, die, bei stärkerem System in Anwendung gebracht, hier nicht dem vollen Beleuchtungskegel, sondern nur einem centralen Theile desselben den Durchtritt gestattet. Ob bei einer bestimmten mikroskopischen Beobachtung der für das gerade benutzte Objectivsystem „volle“ Beleuchtungskegel in Wirkung ist (ob „die Apertur des Systems [cf. p. 45, Anm. 2] voll ausgenutzt“ ist), prüft man am besten so, dass man das Ocular aus dem Tubus entfernt und dann in den Tubus central hineinsieht. Erscheint die obere Linse des Objectivsystems in ihrer ganzen Ausdehnung von Licht erfüllt, so ist der volle Beleuchtungskegel in Wirkung. Ist der Beleuchtungskegel mehr oder weniger reducirt, so findet man nur eine kleinere oder grössere centrale Partie der oberen Objectivlinse von Licht erfüllt. — Die „enge“ Blende hat bei schwachem Trockensystem (Zeiss A, Leitz 3) zweckmässig etwa Stecknadelkopfgrösse, bei Oelimmersionssystemen zweckmässig etwa Erbsengrösse.

1) Abblendung des Condensors mit enger, etwa stecknadelkopfgrosser[1]), Blende.

2) Scharfe, centrale Einstellung des Tropfenrandes mit schwachem System und Planspiegel.

3) Regulirung der Stellung des Abbe'schen Apparates (Einstellung des Bildes der Lichtquelle in die Objectebene).

4) Centrirung des Bildes der Lichtquelle durch Regulirung der Spiegelstellung.

5) Hochschrauben des Tubus und Auswechseln des schwachen Systems gegen das Immersionssystem.

6) Erweiterung der Blende bis zu etwa Erbsengrösse.[2])

7) Bringen eines Tropfens Cedernöl central auf das Deckglas.

8) Vorsichtiges Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Eintauchen des Systems in das Oel. Zurückschrauben des Tubus, ohne die Oelverbindung zu zerreissen.

9) Vorsichtiges, langsames Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Erscheinen des Bildes im Mikroskope.

10) Loslassen des groben Triebes und letzte Regulirung der Einstellung durch die Mikrometerschraube.

11) Sollte das Gesichtsfeld sich nicht an allen Stellen gleichmässig beleuchtet zeigen, so kann man diesen Fehler durch minimale Verstellung des Spiegels ohne Weiteres beseitigen.

Es möge hier ein für alle Mal darauf hingewiesen werden, dass man sich bei der mikroskopischen Betrachtung eines jeden Objectes — besonders wenn starke Objective zur Verwendung kommen — zunächst stets eines möglichst schwachen Oculars bedient. Das schwache Ocular hat dem starken gegenüber eine grosse Menge Vortheile: Das Bild ist lichtstärker und schärfer; die Schärfe wird weniger von geringen Verschiebungen der Mikrometerschraube beeinflusst; das Gesichtsfeld umfasst einen grösseren Theil des Objects; alles in allem: das Arbeiten mit schwachem Ocular ist leichter, angenehmer und bequemer als mit starkem. Speciell auch das Durchmustern eines Präparates ist bei Anwendung eines schwachen Oculars erheblich leichter. Es ist also eine feststehende Regel, dass man zunächst immer das schwache Ocular benutzt. Stösst man dann auf eine Stelle, die man bei stärkerer Vergrösserung betrachten möchte, so wechselt man die Oculare aus, greift aber sofort wieder auf das

---

[1]) cf. p. 55, Anm.

[2]) cf. p. 55, Anm.

schwache Ocular zurück, wenn man weitere Theile des Präparates betrachten will.

Will man nach der Beobachtung des hängenden Tropfens das am Deckglas hängende Bakterienmaterial vernichten, so geht man zu diesem Zwecke am besten in folgender Weise vor: Man dreht das auf dem hohlgeschliffenen Objectträger mit Vaselin angeklebte Deckglas unter Zuhülfenahme zweier Finger so weit um seinen Mittelpunkt, bis eine Ecke des Deckglases über die Objectträgerkante herüberragt. Der hängende Tropfen selbst muss hierbei dauernd in der Mitte des Objectträgerausschliffs bleiben und darf den Objectträger selbst nicht berühren. Dann erfasst man das Deckglas an der hervorragenden Ecke und hebt es langsam vom Objectträger ab. Das Deckglas mit dem Bakterienmaterial wird in ein Gefäss mit Desinfectionsflüssigkeit versenkt, der vaselinirte Objectträger kann ohne Weiteres für einen neuen Versuch verwendet werden.

3. Das gefärbte Deckglas-Trockenpräparat. Die Anilinfarben. Das Princip der maximalen Beleuchtung.

Haben wir uns durch die Untersuchung des hängenden Tropfens über das Aussehen eines Bakteriengemisches im lebenden Zustande informirt, haben wir uns, wenn es sich um eine bestimmte Bakterienart handelt, durch die genannte Methode von eventuell bestehender Eigenbewegung etc. überzeugt, so gehen wir daran, uns ein Dauerpräparat für unsere Sammlung anzufertigen. Ein solches Dauerpräparat hat aber nicht nur den Zweck, eine dauernde Erinnerung an resp. einen dauernden Beleg für einen bestimmten Befund zu bilden oder als unveränderliches Demonstrationsobject zu dienen. Wir sind vielmehr für manche Zwecke direct gezwungen, uns ein solches Präparat anzufertigen. Wenn wir z. B. Bakterien photographisch abbilden wollen, so müssen wir sie (in der Regel) aus dem beweglichen Zustande, in welchem sie im hängenden Tropfen vorhanden sind, in einen fixirten Zustand überführen, sie dauernd festlegen. Wenn wir feststellen wollen, ob ein Sputum Tuberkelbacillen enthält oder nicht, so bedürfen wir hierzu eines Verfahrens, in welchem die dauernde Fixirung des Untersuchungsobjectes einen wesentlichen Punkt bildet.

Die Methode, welche wir anwenden, um bakterienhaltige resp. auf Bakterien zu untersuchende Flüssigkeiten in die Form des Dauerpräparates zu bringen, stammt von R. Koch.[1]) Koch fand, dass

[1]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 401 ff. — Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 5.

Bakterien, die in dünner Schicht am Deckglase angetrocknet werden, in ihren Formen sehr gut erhalten bleiben und sich dann, am Deckglase fixirt, färben und ausgezeichnet conserviren lassen. Zur Herstellung eines solchen „Trockenpräparates“ taucht man den eben ausgeglühten und wieder erkalteten Platindraht mit der Spitze in die bakterienhaltige resp. zu untersuchende Flüssigkeit (Blut, Eiter, Sputum, Gewebssaft, bakterienhaltiges Pflanzeninfus, Faulflüssigkeit etc.) ein und streicht das am Drahte hängen gebliebene Material in möglichst dünner Schicht auf einem rein geputzten[1]) Deckglase[2]) aus. Es empfiehlt sich hierbei, nicht nur die wirkliche Spitze des Drahtes zum Ausstreichen zu benutzen, sondern das Ende des Drahtes in Länge von etwa 1 cm flach auf das Deckglas aufzulegen und dieses letzte Stück des Drahtes in seiner ganzen Ausdehnung zum (quer gerichteten) Ausstreichen der Flüssigkeit zu verwenden. Haben wir consistenteres Material zu untersuchen, z. B. Colonien von der Kartoffel etc., so müssen wir dieses Material, ähnlich wie dies auch bei der Herstellung des hängenden Tropfens geschah, zunächst in flüssige Form bringen. Wir bringen zu dem Zwecke zunächst (mit Hülfe des Platindrahtes) ein kleinstes Tröpfchen reines Wasser auf das Deckglas und verreiben nachher in diesem Wasser und mit demselben ein kleinstes Partikelchen des zu untersuchenden Materials, indem wir für möglichste Flächenausbreitung desselben in möglichst dünner Schicht Sorge tragen.[3])

Ist das Material auf dem Deckglase vertheilt, so kommt der zweite Act des Verfahrens: das Trocknen des vertheilten Materials. Dasselbe soll bei gewöhnlicher Temperatur an der Luft geschehen, nicht unter Erhitzung in der Flamme.[4]) Gewöhnlich sind nur Bruch-

---

[1]) cf. p. 46, Anm. 2.

[2]) Manche Praktiker pflegen das Material behufs späterer Färbung und Untersuchung nicht auf dem Deckglase, sondern auf dem Objectträger auszustreichen. Diese Praxis hat sich vielfach, einestheils um Deckgläser zu sparen, anderntheils um die Arbeit abzukürzen, eingebürgert. Die richtige „Fixirung“ (siehe p. 59) des so disponirten Materials ist etwas schwieriger als die Fixirung des auf dem Deckglase ausgestrichenen Materials. Nach der Färbung, Abspülung und Trocknung (s. weiter unten) solcher Objectträgerpräparate wird das Immersionsoel (ohne Zwischenlage eines Deckglases) direct auf die gefärbte Schicht gebracht. Die Methode ist zuerst von Neisser (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 174) angegeben.

[3]) Wenn wir wässeriges Material vor uns haben, so gelingt eine gleichmässige Ausbreitung nur dann, wenn das Deckglas vollkommen rein ist. Das Letztere wird am schnellsten und besten durch Erhitzen des Gläschens in der Flamme erreicht (cf. p. 46, Anm. 2).

[4]) Eine ganz leichte Erwärmung zum Beschleunigen des Trocknens ist gestattet. Man darf das Präparat z. B. in der erwärmten Luft, welche sich etwa 60 cm über der Flamme des Bunsenbrenners befindet, trocknen.

theile einer Minute dazu erforderlich, das Präparat „lufttrocken“ werden zu lassen.

Ist das Präparat lufttrocken geworden, so kommt Punkt 3 an die Reihe: das Fixiren der Schicht. Wir wollen nämlich die Bakterienschicht hinterher färben; zum Zwecke der Färbung muss aber die Schicht mit wässerigen Farbstofflösungen und dann mit Wasser bespült werden; und dabei werden, wenn man nicht besonders für eine Fixirung der Schicht gesorgt hat, sehr häufig — es braucht dies nicht immer zu geschehen, geschieht aber oft — Theile dieser Schicht heruntergespült. Um das zu vermeiden, wird die Schicht durch Erhitzung fixirt, d. h. es werden die schleimigen Hüllen der Bakterien, vermöge deren dieselben am Glase festgeklebt sind, in Wasser weniger quellbar gemacht, so dass die Bakterien nun fester am Glase haften. Koch führte diese Erhitzung ein nach dem Vorgange von Ehrlich [1]), welcher dieselbe speciell für Blutpräparate als ein zweckmässiges Fixirungsmittel gefunden hatte. Man kann zum Zwecke der Fixirung die Deckgläser 2—10 Minuten in einen auf 120—130° C. erwärmten Trockenschrank bringen. Es genügt jedoch für die allermeisten Fälle eine viel einfachere Methode: Das mit der Pincette [2]) gefasste, horizontal gehaltene Deckglas wird, mit der Schicht nach oben gekehrt, dreimal hintereinander durch die nicht leuchtende Flamme des Bunsen'schen Gasbrenners oder durch eine kräftige Spiritusflamme gezogen. Man beschreibt dabei mit der Hand unter stetiger Bewegung dreimal einen vertikal gestellten Kreis, der einen Fuss im Durchmesser hat, und den die Hand jedesmal in einer Sekunde zurücklegt. Diese genaue Angabe der Geschwindigkeit der Bewegung stammt von Johne [3]), welcher dieselbe in seinen Erinnerungen an die ersten „Choleracurse“ im Koch'schen Institute aufgezeichnet hat.

Man könnte versucht sein, eine derartig genaue Vorschrift für die Schnelligkeit, mit der man das Deckglas durch die Flamme zu ziehen hat, für überflüssig zu halten. Dieselbe ist jedoch nichts weniger als überflüssig. Erhitzt man das Präparat bei dem „Fixiren“ zu stark, so büssen die Bakterien an ihrer Fähigkeit, Farbstoffe aufzunehmen, ein, und zwar um so mehr, je weiter die Erhitzung gegangen ist. Vor allem hat man sich vor einem, wenn auch noch so kurzen, Verweilen des Präparates in der Flamme

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1. 1880.

[2]) Für diese sowie für die folgenden Manipulationen empfiehlt sich sehr die Anwendung der oben (p. 47) bereits erwähnten sogenannten Cornet'schen Pincette.

[3]) Ueber die Koch'schen Reinculturen und die Cholerabacillen. Leipzig. 1885. p. 19.

zu hüten. Die Bewegung soll stetig sein; nur ganz vorübergehend soll die höhere Temperatur einwirken. Steht man einen Moment in der Flamme still, so ist die weitere Brauchbarkeit des Präparates verscherzt. Auf der anderen Seite soll aber das Präparat wirklich „fixirt" werden; und dazu gehört ein bestimmter Grad der Erhitzung. Man hat also bei dieser Manipulation eine gewisse (für verschiedene Untersuchungsobjecte übrigens etwas verschiedene) Mittelstrasse einzuhalten, die durch die obige Angabe im Allgemeinen ziemlich genau bestimmt wird.

Ist das Trockenpräparat fixirt, so ist es zur Färbung fertig. Die Färbung wird auf die Weise ausgeführt, dass man eine geeignete Farblösung auf die angetrocknete Schicht bringt und den Ueberschuss der Farblösung nach kürzerer oder längerer Zeit mit geeigneten Flüssigkeiten (meist Wasser) herunterspült.[1]) Vor der Färbung kann man das Trockenpräparat durch kürzeres oder längeres Eintauchen in eine Sublimatlösung desinficiren; man wird dies z. B. dann thun, wenn Einem daran liegt, pathogenes Material möglichst bald unschädlich zu machen. Die Länge der Einwirkung der Sublimatlösung, welche dazu nothwendig ist, variirt je nach der Beschaffenheit des zu desinficirenden Materiales. Die Färbbarkeit der Bakterienzellen wird nach meinen Erfahrungen auch durch stundenlange Einwirkung der gebräuchlichen Salzsäuresublimatlösung (1 Sublimat, 5 Salzsäure, 1000 Wasser) nicht verändert.[2])

Als Farbstoffe verwendet man zur Bakterienfärbung fast ausschliesslich gewisse Anilinfarben. Es ist zwar richtig, dass sich Bakterien auch mit anderen Farbstoffen, z. B. Haematoxylin, Carmin, tingiren lassen; jedoch ist die Intensität solcher Färbungen mit den durch Anilinfarben hervorgebrachten nicht zu vergleichen. Der Erste, welcher Anilinfarben zum Färben von Bakterien verwendete, war Weigert.[3])

Es ist hier der Ort, einige Bemerkungen über das Wesen der Anilinfarben im Allgemeinen und über ihre Verwendbarkeit in der mikroskopischen Technik zu machen. Die Anilinfarben leiten sich in letzter Linie ab von den beiden Körpern Anilin und Toluidin,

---

[1]) Die Färbung des Präparates braucht nicht sofort nach der Antrocknung und Fixirung des Materials zu geschehen; man kann das fixirte Präparat, vor Feuchtigkeit geschützt, vor der Färbung beliebig lange aufbewahren.

[2]) Es möge hier bemerkt werden, dass, obgleich manchen Anilinfarben eine hohe bakterienschädigende Wirkung zukommt, doch nicht etwa jede Bakterienzelle durch die Aufnahme von Farbstoff abgetödtet wird.

[3]) Ueber eine Mykose bei einem neugeborenen Kinde. — Schles. Gesellsch. f. vaterl. Cultur. Breslau. 10. Dec. 1875. (Jahresbericht, p. 229.)

welche ihrerseits aus den beiden (in dem Steinkohlentheer enthaltenen) Kohlenwasserstoffen Benzol resp. Toluol durch Eintritt einer NH_2-Gruppe (Amidogruppe) an Stelle eines Wasserstoffatoms in den Benzolkern entstanden sind. Aus dem Anilin oder dem Toluidin oder aus beiden zusammen lassen sich nun solche Körper herleiten, welche basische, und solche, die saure Eigenschaften haben. Und man kann die Anilinfarben als Salze auffassen, welche entweder dadurch entstehen, dass sich ein solcher basischer Körper mit irgend einer Säure verbindet, oder dadurch, dass einer der sauren Abkömmlinge mit irgend einem basischen Körper eine Verbindung eingeht. In dem ersteren Falle ist das färbende Princip des entstehenden Salzes offenbar basischer Natur, während in dem letzteren Falle der saure Bestandtheil des Salzes den färbenden Antheil darstellt. Ehrlich[1]) unterscheidet so „basische“ Anilinfarbstoffe und „saure“ Anilinfarbstoffe.

Es hat sich nun gezeigt, dass in der Wirkungsweise dieser beiden Gruppen sehr erhebliche Unterschiede bestehen. Bringt man beispielsweise von zwei gleichen Schnitten thierischen Gewebes den einen in eine Farbflüssigkeit, welche mit einem basischen Anilinfarbstoffe hergestellt ist, den anderen in die Lösung eines sauren Anilinfarbstoffes, so findet man in der Färbung der nach weiterer zweckmässiger Behandlung resultirenden Präparate die erheblichsten Differenzen. Der saure Farbstoff hat das Gewebe diffus, in allen seinen Theilen gleichmässig gefärbt; der basische Farbstoff hat vor allem die Kerne des Gewebes gefärbt, die anderen Bestandtheile haben weniger Farbstoff aufgenommen. Die basischen Anilinfarbstoffe sind also durch eine besondere Affinität zu den Kernen des thierischen Gewebes ausgezeichnet, und man bezeichnet sie daher auch als kernfärbende Anilinfarbstoffe, während man die sauren auch als diffus färbende bezeichnet.

Die am häufigsten angewandten basischen (kernfärbenden) Anilinfarbstoffe sind:

Fuchsin (Rubin, Magenta) [rother Farbstoff].
Gentianaviolett, Methylviolett (Dahlia).
Methylenblau.
Bismarckbraun (Vesuvin).

Zu den sauren (diffus färbenden) Anilinfarbstoffen gehören unter Anderem Eosin, Pikrinsäure.

Die Kerne des thierischen Gewebes und die Protoplasmakörper

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 1. 1880. p. 556.

der Bakterienzellen zeigen nun gewisse Analogien in ihren Eigenschaften, die unter Anderem auch in dem Verhalten der beiderseitigen Dinge gegen Farbstoffe zum Ausdrucke kommen. So wie die Gewebskerne durch eine besondere Affinität zu den basischen Anilinfarbstoffen ausgezeichnet sind, so sind dies auch die Bakterien. Wir brauchen deshalb zur Bakterienfärbung ausschliesslich die basischen (kernfärbenden) Anilinfarbstoffe.

Zur Herstellung der Färbungsflüssigkeiten verfährt man, je nach dem Farbstoff, den man verwenden will, verschieden. Bei den beiden Violetten, dem Fuchsin, dem Methylenblau empfiehlt es sich, concentrirte Lösungen in absolutem Alcohol (welcher das ausgezeichnetste Lösungsmittel für diese Farbstoffe ist) anzustellen, die als Stammflüssigkeiten dienen, zum Färben jedoch an sich nicht verwendet werden können. Diese concentrirten alcoholischen Lösungen werden dann zum Gebrauche mit etwa dem zehnfachen Volumen Wasser verdünnt. Die schliesslich anzuwendenden Farblösungen müssen stets wässerige sein resp. einen hervorragenden Wassergehalt besitzen. Der Grund, weshalb man nicht die unmittelbar gebrauchsfähigen wasserhaltigen Farblösungen von vornherein in grösseren Quantitäten anstellt, ist der, dass die mit Wasser versetzten Lösungen gewöhnlich nur eine beschränkte Haltbarkeit besitzen. Eine nach obiger Vorschrift durch Vermischen der concentrirten alcoholischen Lösung mit der zehnfachen Wassermenge hergestellte Violett- oder Fuchsinlösung wirkt, frisch bereitet, ausserordentlich schön; bald jedoch, spätestens nach mehreren Wochen, neigen diese Flüssigkeiten dazu, Niederschläge ausfallen zu lassen; sie färben dann weniger intensiv und bedecken das Präparat gern mit grösseren oder kleineren, mitunter sehr dicht gesäeten Fleckchen, welche als „Farbstoffniederschläge“ bekannt sind und das Präparat häufig unbrauchbar machen. Dies gilt für die violetten und die Fuchsinlösungen. Den Methylenblaulösungen kommt etwas derartiges nicht zu. Methylenblaulösungen sind unbeschränkt haltbar.

Wir werden also, wenn wir Bakterien violett oder fuchsinroth färben wollen, uns im Allgemeinen frisch bereiteter, durch Vermischen concentrirter alcoholischer Stammlösungen mit Wasser hergestellter Farblösungen bedienen. Was noch das Bismarckbraun im Speciellen angeht, so empfiehlt es sich, diesen Farbstoff in concentrirter Lösung in einem Gemisch von Wasser und Glycerin zu gleichen Theilen anzuwenden.[1])

---

[1]) R. Koch, Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 406.

In der Wirkungsweise der verschiedenen genannten Farbstoffe auf die Präparate sind übrigens ganz bestimmte Unterschiede vorhanden. Das Bismarckbraun, welches früher, namentlich für die Zwecke der Mikrophotographie, unentbehrlich war, wird jetzt (wenigstens für Deckglastrockenpräparate) nur verhältnissmässig wenig noch angewendet, weil wir einerseits gelernt haben auch anders als braun gefärbte Bakterien zu photographiren, und weil das Bismarckbraun manche Bakterienarten (wie z. B. die Tuberkelbacillen) schlecht oder gar nicht färbt. Am intensivsten färben und von ganz allgemeiner Anwendbarkeit für alle Bakterienarten sind die violetten Farbstoffe und das Fuchsin. Das Methylenblau[1]) färbt zarter und lässt in dem Bakterienleibe oft noch feine Differenzen des Inhalts nach der Färbung erkennen, die bei Anwendung der Violette oder des Fuchsins vollständig verschwinden, in der Totalfärbung des Bakterienkörpers untergehen. Für Trockenpräparate von eiweisshaltigem Material (Blut, Eiter etc.), welches auf Bakterien untersucht werden soll, empfiehlt sich vor allem die Methylenblaufärbung, weil bei dieser das Plasma des Blutes, Eiters etc. viel weniger gefärbt wird, als wenn Fuchsin oder Violett zur Verwendung gelangt, und weil somit die Bakterien, Leukocyten etc. viel besser zur Darstellung kommen.

Kehren wir nun zu unserem Deckglas-Trockenpräparate zurück, welches wir, zur Färbung bereit, verlassen hatten. Wir fassen das Präparat mit einer kleinen, in der linken Hand gehaltenen gewöhnlichen Pincette (oder mit der Cornet'schen Pincette [cf. oben p. 47]) so in horizontaler Lage, dass die angetrocknete Schicht nach oben sieht; wir bringen dann einige Tropfen wässeriger Farblösung auf diese Schicht (am besten mit Hülfe einer kleinen Pipette, welche aus der die Farblösung enthaltenden Flasche heraussieht), wir lassen die Farblösung einige Secunden einwirken und spülen dann mit Wasser den Ueberschuss ab.[2]) Die Schicht muss sich dann gefärbt zeigen. Mit Hülfe eines Glasrohres oder auch ohne ein solches blasen wir dann das überschüssige Wasser von der gefärbten Schicht herunter.

---

[1]) In Trockenpräparaten, welche mit Methylenblau gefärbt sind, findet man häufig einzelne Dinge röthlich gefärbt, während andere eine rein blaue Farbe angenommen haben. In Ausstrichpräparaten der Milz von Milzbrandmäusen, die mit Methylenblau behandelt wurden, habe ich häufig die Milzbrandbacillen röthlich, die Kerne der Leukocyten rein blau gefärbt angetroffen. — Die Kapseln der Milzbrandbacillen (siehe weiter unten unter „Milzbrandbacillus") erscheinen in Methylenblautrockenpräparaten häufig hellröthlich im Gegensatz zu dem blau gefärbten Protoplasmakörper.

[2]) Hierbei hat man darauf zu achten, dass auch die etwa zwischen den Pincettenbranchen angesammelte Farbflüssigkeit durch Ausspülen der Branchen entfernt werde.

wischen die andere Deckglasseite mit einem Leinwandläppchen oder mit Fliesspapier trocken, ziehen eventuell das Deckglas mit nach oben gerichteter Schicht noch einige Male durch die Flamme, um es vollständig zu trocknen, und sind nun mit der Färbung fertig.

Nach der Färbung wird das Präparat auf den Objectträger aufgekittet (zur Conservirung „eingeschlossen"). Wir verwenden zu diesem Zwecke fast ausschliesslich Canadabalsam.[1]) Der Canadabalsam ist ein von bestimmten Coniferen stammendes terpentinähnliches Harz, welches in äusserst zähflüssigem Zustande im Handel erscheint und für unsere Zwecke erst verdünnt werden muss. Die Verdünnung wurde früher hauptsächlich mit Terpentinöl oder mit Chloroform bewirkt. Es hat sich aber gezeigt, dass diese beiden Körper sich gegen gefärbte Objecte, namentlich gegen mit Anilinfarben gefärbte Bakterien, durchaus nicht gleichgültig verhalten. Sie wirken allmählich entfärbend. Als durchaus indifferenter Körper hat sich jedoch in dieser Hinsicht das Xylol erwiesen, und dieses würde ich deshalb ganz allein zur Verdünnung des Balsams empfehlen. Das Xylol, ein Dimethylbenzol, ist eine leicht bewegliche, in ihrem Geruche zwischen Benzol und Bittermandelöl stehende Flüssigkeit, die, ohne Rückstand zu hinterlassen, verdunstet. Zum Verdünnen des Balsams nimmt man die Hälfte seines Volumens bis zum gleichen Volumen Xylol je nach dem Zwecke, dem der verdünnte Balsam dienen soll. Für Deckglastrockenpräparate braucht man einen dünneren, zum Conserviren von Schnitten einen dickeren „Xylol-Balsam".

Das Aufkitten des Trockenpräparates mit dem Xylol-Balsam auf den Objectträger (oder das „Einschliessen" des Präparates) wird so ausgeführt, dass man auf die Mitte des reingeputzten Objectträgers ein kleines Tröpfchen des Balsams[2]) bringt und dann,

---

[1]) Nur selten werden andere Einschlussmittel verwandt. Mit Bismarckbraun gefärbte Präparate können auch in Glycerin, violett- oder fuchsingefärbte Präparate können auch in essigsaurem Kali (1 Theil auf 2 Theile Wasser) conservirt werden (R. Koch). (Solche Präparate müssen dann mit einem Lackrahmen versehen werden, welcher die Conservirungsflüssigkeit nach aussen abschliesst. Am besten eignet sich Asphaltlack für diesen Zweck [eine Lösung von Asphalt in Leinöl und Terpentin]. Der Lackverschluss wird mit Hülfe eines Pinsels in der Weise hergestellt, dass sowohl der Rand des Deckglases wie die angrenzenden Theile des Objectträgers von dem bestreichenden Pinsel getroffen werden.) — Handelt es sich nicht um Conservirung, sondern nur um mikroskopische Besichtigung der gefärbten Deckglaspräparate, so kann man auch Cedernöl oder (jedoch viel weniger zweckmässig) Wasser als Einschlussmittel verwenden.

[2]) Der Balsam wird am besten in den (p. 46) beschriebenen kleinen weithalsigen Fläschchen mit aufgeschliffener übergreifender Kappe aufbewahrt. In dem Fläschchen steht permanent ein dünnes Glasstäbchen mit rund verschmolzenen Enden,

vorsichtig und langsam, das Deckglas, mit der gefärbten Schicht nach unten, mit einer feinen Pincette gefasst, mitten auf den Objectträger, d. h. auf das Balsamtröpfchen legt. Benutzt man zu der letzteren Manipulation nicht die Pincette, sondern nur die Finger, so ist man genöthigt, im letzten Moment das Deckglas fallen zu lassen; und es kommt dann häufig zur Bildung kleiner Blasen innerhalb des Balsams, welche unter Umständen geeignet sind, die Beobachtung des Präparates zu stören. Unter dem Deckglase breitet sich der Balsam je nach seiner Consistenz rascher oder langsamer aus und bildet schliesslich eine Verbindung des Deckglases in seiner ganzen Ausdehnung mit dem Objectträger. Man hüte sich übrigens, zu viel des Balsams auf den Objectträger zu bringen. Begeht man diesen Fehler, so quillt der Balsam unter den Rändern des Deckglases hervor, kommt dann bei der nachherigen mikroskopischen Betrachtung eventuell mit dem Oel des Immersionssystems zusammen, vermischt sich mit demselben, verändert den Brechungsexponenten der Immersionsflüssigkeit, und man muss sich dann der Mühe unterziehen, das Immersionssystem sowohl wie die Oberfläche des Deckglases sauber (am besten mit Benzol oder Xylol) abzuputzen, den überflüssigen Balsam zu entfernen, und kann dann die Beobachtung von Neuem beginnen. Ein weiterer Verschluss des aufgekitteten Präparates ist nicht nothwendig. Innerhalb weniger Tage ist der Balsam ziemlich fest, innerhalb einer Reihe von Wochen an den Rändern steinhart, und das Präparat ist dann ein echtes, wirkliches Dauerpräparat. Die Färbung hält sich, wenn man die Präparate im Dunkeln aufbewahrt, dauernd unverändert.

Es ist selbstverständlich, dass man unmittelbar nach der Herstellung des Präparates dasselbe mit einer genauen Bezeichnung (am besten wird dieselbe auf einem aufgeklebten Etikett[1]) angebracht) versieht, welche die näheren Daten über die Herstammung

---

welches nach Abhebung der Kappe aus dem Fläschchen heraussieht, und mit Hülfe dessen der Tropfen Balsam herausgehoben wird. Ganz unbrauchbar sind die (für andere Reagentien ganz brauchbaren) sogenannten Cobaltflaschen für unseren Zweck; diese ähneln den beschriebenen Flaschen, unterscheiden sich von denselben aber dadurch, dass der Glasstab durch einen eingeschliffenen, nach unten in die Flasche hinein verlängerten Stopfen ersetzt ist. Man wird diese Gefässe nach kurzem Gebrauche verwerfen; denn es ist bei ihnen nicht zu vermeiden, dass der Balsam über den Flaschenrand herausquillt und die Aussenwand des Gefässes, den Tisch etc. beschmutzt und verschmiert.

[1]) Man mache es sich (aus naheliegenden Gründen) zur Regel, im bakteriologischen Laboratorium die aufzuklebenden Etiketts nicht anzulecken, sondern sie auf irgend eine andere Weise mit Wasser anzufeuchten.

des Materiales und namentlich auch Datum und Jahreszahl der Herstellung angiebt.

Will man übrigens ein Trockenpräparat, welches vor längerer Zeit gefärbt und in Canadabalsam eingeschlossen wurde, wieder von dem Objectträger herunternehmen, z. B. um es auf einen anderen Objectträger aufzukitten oder es mit einer anderen Farbe zu färben (es „umzufärben") etc., so braucht man nur den Objectträger von unten her über der Flamme leicht (nicht zu stark [1])) zu erwärmen. Der Balsam wird sofort wieder etwas flüssiger, und man kann dann mit einem kleinen Hölzchen oder Aehnlichem das Deckglas von dem Objectträger herunterschieben und es ohne Weiteres mit einem neuen Tröpfchen Balsam auf einen anderen Objectträger aufkitten. Beabsichtigt man eine Umfärbung, so wird das herunter geschobene Deckglas in Xylol, das man zweckmässiger Weise mehrmals erneuert, gebracht, bis der Balsam vollkommen heruntergelöst ist. Dann kommt das Deckglas in absoluten Alcohol zur Entfernung des Xylols, dann in eine der weiter unten zu besprechenden Entfärbungsflüssigkeiten, wird nach erfolgter Entfärbung in Wasser abgespült und kann nun mit beliebiger Farblösung wieder gefärbt, dann abgespült, getrocknet und wieder aufgekittet werden.

Nach dieser Abschweifung wollen wir uns unserem Trockenpräparate wieder zuwenden, welches wir gefärbt, in Balsam eingeschlossen und damit zur Beobachtung fertig gemacht hatten. Während wir zur mikroskopischen Betrachtung des hängenden Tropfens aus genauer erörterten Gründen darauf angewiesen waren, uns zunächst eine bestimmte Stelle des Präparates (nämlich den Rand des Tropfens) aufzusuchen, um diese zu untersuchen, haben wir es zum Zwecke der genaueren mikroskopischen Prüfung des gefärbten Trockenpräparates nicht nöthig, eine solche bestimmte Stelle aufzusuchen. Das Trockenpräparat stellt ein sehr dünnes, in horizontaler Ebene ausgebreitetes Object dar, dessen einzelne Theile mehr oder weniger gleichwerthig sind; und es ist deshalb gleichgültig, welche Stelle des Deckgläschens wir zunächst unter die Linse bringen, falls nur überhaupt an dieser Stelle Theile der gefärbten Schicht vorhanden sind. Gewöhnlich legt man deshalb das Präparat so auf den Objecttisch, dass die obere Linse des Abbe'schen Apparates und das Deckglas concentrisch über einander liegen, dass also die optische Axe des Mikroskopes durch die

[1]) Es sei hier bemerkt, dass in Balsam eingeschlossene Bakterienpräparate, die stark (etwa bis zu beginnender Blasenbildung des Balsams) erhitzt werden, die Färbung hierbei verlieren.

Mitte des Deckgläschens geht. Dann wird ein Tröpfchen Cedernöl [1]) auf die Mitte des Deckgläschens gebracht und, ohne dass erst eine Beobachtung mit schwachem System erfolgt, das Immersionssystem in der oben (p. 51) beschriebenen Weise unter Benutzung des groben Tubustriebes in das Oel hineingesenkt. Nachdem die Berührung der Linse mit dem Oel erfolgt ist, wird, wie dies bei der Einstellung des hängenden Tropfens geschah, der Tubus wieder etwas in die Höhe geschraubt, ohne dass die Oelverbindung dabei auseinanderreisst. Dann bringt man das Auge über das Ocular und regulirt nun zunächst provisorisch die Spiegelstellung so, dass das Gesichtsfeld, in welchem zunächst ein Bild noch nicht sichtbar ist, überhaupt nur eine gewisse Helligkeit zeigt. Dann wird durch vorsichtiges und langsames Herunterschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes das Bild zum Erscheinen gebracht und in dem Momente des Erscheinens der grobe Trieb verlassen und die weitere feinere Einstellung des Bildes mit der Mikrometerschraube vollzogen.

Nun ist zwar das Objectiv resp. der Tubus in die richtige Stellung zum Objecte gebracht; das Bild wird aber nur in Ausnahmefällen sich jetzt schon so zeigen, wie wir es definitiv zu sehen wünschen. Ein wichtiger Punkt ist noch zu erledigen: die endgültige Regulirung der *Beleuchtung*. Wir hatten die Beleuchtung zunächst nur so eingerichtet, dass überhaupt Strahlen der Lichtquelle, von dem Spiegel reflectirt, durch das *Abbe*'sche Condensorsystem in das Objectiv gelangten. Es kommt jetzt noch darauf an, die Stellung des auf- und abwärts verschieblichen *Abbe*'schen Apparates so zu reguliren, dass der *Vereinigungspunkt der aus ihm heraus in das Object eintretenden Lichtstrahlen in dem Objecte selbst liegt*. Denn dies ist, wie wir oben (p. 52) hervorgehoben haben, zum Zustandekommen eines möglichst guten Bildes stets erforderlich.

Um diese zweckmässigste Stellung des Beleuchtungskörpers zu finden, kann man sich entweder des Verfahrens bedienen, das wir oben bei der Einstellung des hängenden Tropfens anwandten, und das darauf beruht, dass man, indem man das Object mit schwachem Objectiv

[1]) Es sei gestattet, an dieser Stelle ein Wort über den Modus der *Entfernung des Cedernöls vom frischen Präparate nach der abgeschlossenen mikroskopischen Beobachtung* zu sagen: Am besten begnügt man sich zunächst damit, durch ein auf das Deckglas aufgelegtes Stückchen Fliesspapier den flüssigen Ueberschuss des Oels herunterzunehmen. Der auf dem Deckglas verbleibende Rest des Oels wird nach einigen Wochen, wenn der Balsam völlig fest geworden ist und das Deckglas also fest am Objectträger haftet, mit einem in Benzol oder Xylol getauchten Läppchen entfernt.

ansieht, den Abbe'schen Apparat so stellt, dass das Bild der Lichtquelle in der Objectebene direct sichtbar wird. Will man aber das schwache Objectiv umgehen (und dies pflegt man bei der Betrachtung gefärbter Trockenpräparate gewöhnlich zu thun), so findet man jene zweckmässigste Stellung des Beleuchtungskörpers auf eine etwas andere Weise. Hat man nämlich zunächst, wie erörtert, überhaupt bei irgend welcher Beleuchtung das Bild mit dem Immersionssystem möglichst scharf eingestellt, so bringt man nun das Princip der maximalen Beleuchtung zur Anwendung; d. h. man regulirt Abbe- und Spiegelstellung gleichzeitig so, dass das Centrum des Gesichtsfeldes resp. das Object sich möglichst hell beleuchtet zeigt. Es ist klar, dass dies Letztere nur dann zu Stande kommen kann, wenn die von der Lichtquelle ausgehenden Strahlen sich genau in dem Objecte oder in der Objectebene vereinigen. Das Princip, die Beleuchtung maximal zu machen, ist also identisch mit dem Principe, das Bild der Lichtquelle in das zu beobachtende Object zu projiciren; und ich darf daher das Princip der maximalen Beleuchtung, welches übrigens zuerst von mir [1]) in dieser Fassung aufgestellt resp. definirt worden ist, ganz allgemein für das mikroskopische Arbeiten empfehlen.

Noch ein Wort über das rein manuelle Vorgehen bei dem Einstellen dieser maximalen Beleuchtung: Vorausgesetzt, wir hätten das Object mit dem Immersionssystem bei irgend welcher Beleuchtung zunächst möglichst scharf eingestellt, so würden wir weiterhin nur an der Spiegelstellung und an der Stellung des Abbe'schen Condensors eventuelle Aenderungen vorzunehmen haben. Wir bringen dann die linke Hand an den Trieb des Abbe'schen Apparates, die rechte an die Spiegelfassung, richten den Spiegel zunächst so, dass die Mitte des Gesichtsfeldes oder das Gesichtsfeld überhaupt möglichst stark beleuchtet ist, und schrauben nun den Abbe'schen Apparat auf- oder abwärts, je nachdem die Lichtstärke in der ersten oder in der zweiten Bewegungsrichtung zunimmt, bis wir zum Maximum der Lichtstärke gekommen sind. An der Spiegelstellung nehmen wir nur dann in den einzelnen Momenten dieser Regulirung der Abbe-Stellung Veränderungen vor, wenn die Beleuchtung aus dem Gesichtsfelde herausgehen resp. nicht centrisch bleiben sollte. Bei einem ideal construirten Mikroskope ist dies allerdings nicht der Fall; die meisten, auch die besten Instrumente, zeigen aber Fehler in der Centrirung des Abbe'schen Condensors, und diese werden durch geringe Aenderungen der Spiegelstellung cor-

[1]) 1. Auflage dieses Buches. 1890. p. 56.

rigirt. Nun würde noch feinste Einstellung der Bildschärfe mit der Mikrometerschraube erfolgen; und dann ist die gesammte Disposition des Mikroskopes die zweckmässigste, die unter den gegebenen Bedingungen möglich ist.

Man kann die maximale Beleuchtung noch auf eine andere Weise einstellen: Nachdem man nämlich mit Hülfe des Immersionssystems das Object zunächst bei irgend welcher Beleuchtung möglichst scharf eingestellt, d. h. dem Objectiv die richtige Entfernung vom Objecte gegeben hat, entfernt man das Ocular aus dem Tubus (ohne den letzteren zu verstellen), blickt dann central in den Tubus hinein und disponirt nun die Spiegelstellung und die Stellung des auf- und abwärts verschieblichen Abbe'schen Beleuchtungskörpers so, dass die obere Objectivlinse möglichst hell leuchtend erscheint, und dass der Mittelpunkt der leuchtenden Partie mit dem Centrum der Linse zusammenfällt. Die hierzu nothwendigen Stellungen des Spiegels und des Abbe'schen Apparates findet man durch Ausprobiren (Hin- und Herschieben etc.) sehr leicht in wenigen Secunden. Bringt man nun das Ocular in den Tubus zurück, so hat man nur noch event. die letzte feine Einstellung der Bildschärfe an der Mikrometerschraube vorzunehmen, um die zweckmässigste Disponirung des Mikroskopes für den gegebenen Fall erreicht zu haben.

Dass wir bei der Einstellung des gefärbten Präparates keine Abblendung des Abbe'schen Condensors vornehmen, sondern denselben voll zur Wirkung kommen lassen, ist nach den oben (p. 54) über die Functionen des Abbe'schen Apparates gegebenen Erörterungen selbstverständlich.[1])

Das Verfahren der mikroskopischen Einstellung des gefärbten Trockenpräparates würde sich also folgendermassen gestalten:

---

[1]) Arbeitet man bei Lampenlicht, so ist das Mikroskopiren bei der geschilderten Beleuchtung, namentlich wenn man schwache Oculare verwendet, für ein normales Auge höchst unangenehm. Das Auge wird durch die Fülle der Lichtstrahlen erheblich geblendet. Man mache es sich, wenn man seine Augen lieb hat, zur Regel, bei der Beobachtung mit Lampenlicht und vollem Condensor stets blaue Gläser zu benutzen (cf. p. 52, Anm. 2). Es ist nicht statthaft, das Licht dadurch abzustumpfen, dass man den Condensor abblendet, oder dass man durch vertikale Verschiebung des Condensors von dem Principe der maximalen Beleuchtung abweicht. Denn in den beiden letzteren Fällen würde man mit engerem Beleuchtungskegel arbeiten, Diffractionssäume an den Contouren der Objecte erzeugen und ein Zustandekommen des gewünschten (und für die meisten Zwecke unumgänglich nothwendigen) reinen Farbenbildes (cf. p. 54) vereiteln.

1) Position des Präparates auf dem Objecttisch so, dass etwa die Mitte des Deckgläschens in der optischen Axe liegt.

2) Bringen eines Tropfens Cedernöl central auf das Deckglas.

3) Vorsichtiges Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Eintauchen des Immersionssystems in das Oel. Zurückschrauben des Tubus, ohne die Oelverbindung zu zerreissen.

4) Entfernung jeder Blendung unterhalb des Abbe'schen Apparates. Stellung des Planspiegels so, dass das Gesichtsfeld (irgendwie) beleuchtet erscheint.

5) Vorsichtiges, langsames Niederschrauben des Tubus mit Hülfe des groben Triebes bis zum Erscheinen des Bildes.

6) Loslassen des groben Triebes und möglichste Scharfstellung des Bildes mit Hülfe der Mikrometerschraube.

7) Herstellung der maximalen Beleuchtung durch Regulirung der Abbe- und Spiegelstellung nach einer der oben (p. 68, 69) angegebenen Methoden.

Hat man auf diese Weise eine Stelle des Präparates eingestellt, so unterwirft man dieselbe der Besichtigung und kann dann, die eine Hand am Präparate, die andere an der Mikrometerschraube, durch Verschiebung des Präparates sich beliebige weitere Stellen des Präparates zur mikroskopischen Anschauung bringen. An der Beleuchtung braucht man währenddessen naturgemäss nichts zu ändern.

An einem solchen gefärbten Trockenpräparate zeigen sich nun die einzelnen Bakterien, und zwar der Protoplasmakörper derselben, mehr oder weniger intensiv gefärbt. Sind die Hüllen (cf. p. 9) stärker entwickelt, so kommen sie als weniger intensiv oder auch als kaum gefärbter den Protoplasmakörper umgebender Hof deutlich zur Erscheinung (vgl. Taf. XII, Fig. 67 und 69).

Häufig finden wir in einem gefärbten Trockenpräparate (und dasselbe gilt auch für die später zu besprechenden Schnittpräparate) nicht alle Individuen (die zu derselben Art gehören) gleichmässig gefärbt. Neben solchen, deren Protoplasmakörper sich intensiv tingirt hat, sehen wir andere, die blass, schlecht gefärbt erscheinen. Es handelt sich hier um Individuen, die in Degeneration begriffen oder vollständig degenerirt sind, und deren Protoplasma damit die Fähigkeit verloren hat, sich mit Farbstoffen zu beladen. Der Verlust der Färbbarkeit lässt mit Sicherheit auf eingetretenen Tod schliessen (R. Koch [1]); andererseits ist es aber nicht statthaft, aus der erhalten

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig. 1878. p. 53.

gebliebenen Färbbarkeit den Schluss zu ziehen, dass das Individuum vor der Präparation noch völlig lebenskräftig war, wie Untersuchungen von Baumgarten und Braem[1]) gezeigt haben.

Sind in dem Trockenpräparate Bacillen vorhanden, welche ausgebildete Sporen enthalten, so zeigen sich die letzteren als ungefärbte Körper innerhalb des Bacillenleibes, der im Uebrigen noch ganz normal gefärbt sein kann (cf. Taf. IV, Fig. 19; Taf. VI, Fig. 35; Taf. VII, Fig. 39). Man hüte sich aber davor, jede ungefärbte Stelle in einem gefärbten Bacillus als „Spore" anzusprechen. Die ausgebildete Spore hat eine resistente Membran (cf. oben p. 16), welche auch dem Eindringen von Farbstofflösungen einen sehr erheblichen Widerstand entgegensetzt. Aus diesem Grunde erscheinen im gefärbten Trockenpräparat die Sporen gewöhnlich ungefärbt; aber es können innerhalb von Bacillen Stellen auch aus anderen Gründen ungefärbt bleiben, z. B. wenn das Protoplasma bei beginnender Degeneration hier und da seine Färbbarkeit eingebüsst hat. Ferner kommt es auch, wie Buchner[2]) gezeigt hat, vor, dass bei dem Zutritte der Farblösung das Bacillenprotoplasma sich innerhalb der Bacillenmembran etwas contrahirt[3]) und so eine ungefärbte vacuolenartige Stelle entsteht. Zur sicheren Diagnose einer „Spore" ist ausser der Beobachtung des Färbungsverhaltens vor Allem der Nachweis der Keimfähigkeit des Gebildes nothwendig.

Hat man Blut auf Bakterien zu untersuchen, so kann man sich mit Vortheil der geschilderten Methode der Darstellung des gefärbten Trockenpräparates bedienen.[4]) Bei richtiger Erhitzung des Präparates (gelegentlich der Fixirung) zeigen sich dann die Bakterien am intensivsten gefärbt, die rothen Blutkörperchen in ihrer Gestalt erhalten und weniger intensiv gefärbt, das Plasma wenig gefärbt. Mitunter stört aber die Färbung der Blutkörperchen und des Plasma die Bakterienfärbung resp. Bakterienbeobachtung, und es ist dann mit Vortheil ein Verfahren anzuwenden, welches ich[5]) ursprünglich zur Färbung von Recurrensspirillen in Blutpräparaten angegeben, dann aber zur Darstellung von Bakterien in Blutpräparaten überhaupt[6]) empfohlen habe. Dies Verfahren beruht darauf, dass durch Abspülen

---

[1]) Cf. Centralbl. f. klin. Med. 1888. No. 29.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 12—13.

[3]) Vergl. oben p. 10 „Plasmolyse."

[4]) Vergl. p. 63 (Empfehlung des Methylenblaus für die Untersuchung eiweisshaltiger Flüssigkeiten).

[5]) Fortschritte d. Medicin. 1885. p. 755.

[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22.

der getrockneten und fixirten Blutpräparate mit dünner (1—5 procentiger) Essigsäurelösung das Haemoglobin aus den Blutscheiben extrahirt und ein grosser Theil des Plasma von dem Glase heruntergewaschen wird, ohne dass die Fixirung der Bakterien dabei leidet. Trocknet man hinterher die Schicht wieder, so kann man sie nun wie gewöhnlich färben, und man erhält so eine ziemlich isolirte Färbung der Bakterien; die Blutkörperchen erscheinen nur noch wie blosse Schemen und stören das Bild der gefärbten Bakterien nicht mehr. Fig. 70 auf Taf. XII (Recurrensspirillen in Blut) ist nach einem auf die beschriebene Weise hergestellten Präparate aufgenommen. Die eben geschilderte Methode lässt aber manchmal im Stich, wenn die Blutschicht bereits vor sehr langer Zeit am Deckglas angetrocknet und das Präparat in diesem Zustande aufbewahrt wurde. Das Plasma ist dann so fest am Deckglase angetrocknet, dass es nicht gelingt, dasselbe mit Essigsäurelösung abzuspülen. Hier habe ich [1]) mit Erfolg folgenden Kunstgriff angewendet: Ich behandelte so eingetrocknete Schichten mit 2—3 proc. wässeriger Pepsinlösung. Das Plasma wurde in kurzer Zeit peptonisirt, die Bakterien blieben wohl erhalten.

Eine Doppelfärbung von Blut-Trockenpräparaten, die Bakterien enthalten, erreicht man durch Behandeln der Präparate mit einer Farblösung, die ein Gemisch von Methylenblau und Eosin darstellt (Chenzinsky'sche [2]) Eosin-Methylenblaulösung). Man nimmt zweckmässig [3]) ein ganz frisch bereitetes Gemisch von

2—3 Vol. gesättigter wässeriger Methylenblaulösung,
1 Vol. $^1/_2$ proc. Eosinlösung in 70 bis 75 proc. Alcohol,
2 Vol. Wasser.

Auch die weiterhin noch zu besprechende Gram'sche Methode lässt sich bei geeigneter Natur der Objecte für Deckglastrockenpräparate (speciell auch für Blutpräparate) verwenden.

Zur mikroskopischen Darstellung von Mikroorganismen im Horngewebe hat Unna [4]) folgende Methode angegeben: Die betreffende Hornschuppe (Kruste, Comedo etc.) wird auf einen Objectträger gelegt und mit einem Tropfen starker Essigsäure befeuchtet. Ein zweiter Objectträger wird auf den ersten gelegt, und es wird durch Drücken und Reiben der beiden Objectträger gegen einander das in

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22.

[2]) Chenzinsky (Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 15) hat diese Mischung zuerst, und zwar zur Färbung von Malariablut-Präparaten, angegeben.

[3]) Cf. die Arbeiten von Plehn (Aetiologische und klinische Malariastudien. Berlin 1890) und von Canon (Virch. Arch. Bd. 131. 1893. p. 404).

[4]) Die Färbung der Mikroorganismen im Horngewebe. Hamburg und Leipzig 1891.

der Essigsäure aufquellende Material zu einem Brei zerrieben. Die Objectträger werden dann von einander gehoben und zur Verdunstung der Essigsäure rasch über der Flamme getrocknet. Die ziemlich abgekühlten, aber noch warmen Objectträger werden, nach einander, mit etwas Aether-Alcohol-Mischung begossen, welche das Fett aus dem angetrockneten Materiale extrahirt; die ablaufende fetthaltige Flüssigkeit wird von einem Handtuche aufgesogen, mit Hülfe dessen man den Objectträger zwischen den Fingern hält. Das entfettete Material wird mit Methylenblaulösung[1]) unter gelinder Erwärmung gefärbt, mit Wasser abgespült, mit dünner Essigsäurelösung (oder anderen passenden Mitteln) differenzirt[2]), mit Wasser oder Alcohol oder beiden abgespült, über der Flamme getrocknet[3]) und in Balsam eingeschlossen. Unna nennt so hergestellte Präparate „Druckpräparate“.

Den folgenden Abschnitten vorgreifend wollen wir hier schon darauf aufmerksam machen, dass eine jede Färbung bei höherer Temperatur schneller vor sich geht und unter Umständen überhaupt bessere Resultate giebt als die Färbung bei niedrigerer Temperatur.[4]) Von dieser Thatsache kann man manchmal bei der Darstellung von Trockenpräparaten Gebrauch machen. Findet man nämlich, dass sich ein bestimmtes Material bei der gewöhnlichen, geschilderten Behandlung nur mässig färbt, dass die Bakterienzellen sich im Allgemeinen nur schlecht mit Farbstoff beladen, so kann man oft ganz gute Bilder erzielen, wenn man das mit der Pincette gehaltene, fixirte und mit Farbstofflösung bedeckte Deckgläschen für wenige Secunden mitten in die Gas- oder Spiritusflamme bringt. Die Farbflüssigkeit fängt dann an zu dampfen und wird, ehe sie einzutrocknen beginnt, mit Wasser in der gewöhnlichen Weise heruntergespült.

Durch die bisher geschilderten Methoden, gefärbte Trockenpräparate darzustellen, wird, wie bereits besprochen, das Bakterienprotoplasma gefärbt; auch die Hülle nimmt oft in gewisser Weise Färbung an. Un-

---

[1]) Unna verwendet folgende Lösung: Borax und Methylenblau ana 1,0, destillirtes Wasser 100,0.

[2]) Ueber „Differenzirung“ der Färbung siehe weiter unten im nächsten Abschnitt (Schnittbehandlung).

[3]) Cf. hierzu das über „Antrocknungsmethode“ im nächsten Abschnitt (Schnittbehandlung) Gesagte.

[4]) Dies entspricht der oben (p. 34) erwähnten wichtigen Thatsache, dass ein jedes chemische Desinfectionsmittel bei höherer Temperatur energischer wirkt als bei niedrigerer. So wie das Desinfectionsmittel bei der höheren Temperatur schneller in die Bakterienzelle eindringt, so thut dies auch der Farbstoff.

gefärbt hingegen bleiben fast ausnahmslos[1]) die Geisselfäden, die Bewegungsorgane der eigenbeweglichen Bakterienarten (cf. oben p. 14).

Methoden, Geisselfäden an Bakterien zur Anschauung zu bringen, wurden zuerst von R. Koch angegeben. Koch wies diese Gebilde zunächst an einigen Spirillen- und Bacillenarten nach, die, am Deckglase angetrocknet, ungefärbt und ohne Zusatz einer Einschlussmasse bei bestimmter Beleuchtung die Geisselfäden sehr deutlich erkennen liessen.[2]) Durch eigene Versuche habe ich mich davon überzeugt, dass es bei solchen Bakterienarten, welche nicht zu zarte, sondern relativ kräftige Geisseln besitzen, ein Leichtes ist, die letzteren im ungefärbten Präparate zur Anschauung zu bringen. Die in Wasser suspendirten Bakterien werden in dünnster Schicht auf dem Deckglase ausgebreitet; man lässt die ausgebreitete Wasserschicht verdunsten und befestigt das Deckglas dann so auf einem Objectträger, dass es, die Bakterienschicht nach unten gekehrt, mit seinem Rande auf einem Rähmchen von dünnem Papier ruht, welches mit dem Objectträger sowohl wie mit dem Deckglas durch Canadabalsam verbunden wird. Auf diese Weise stellt man sich leicht Dauerpräparate her, bei denen das am Deckglase haftende Bakterienmaterial in einer (nach aussen hin abgeschlossenen) Luftschicht eingeschlossen ist. Bei Anwendung von Oelimmersion, Abbe'schem Condensor und mittelweiter Blende sieht man dann bei passendem Material (siehe oben) ohne Weiteres die Geisselfäden. Ein Beispiel zeigt Fig. 16 auf Taf. III. Das Präparat, aus faulendem Strohinfus hergestellt, zeigt Spirillum Undula und grosse Bacillen mit Geisselfäden bei 1000facher Vergrösserung.

Einschalten möchte ich hier, dass es mir — bei sehr grossen Spirillen mit sehr kräftigen Geisseln — mehrmals gelungen ist, die letzteren im hängenden Wassertropfen zu sehen. Diese Beobachtung, welche, soviel mir bekannt, von anderer Seite bisher nicht gemacht worden ist, zeigt, dass die Substanz der Geisselfäden bei den in Frage kommenden Arten ein Lichtbrechungsvermögen besitzt, welches das des Wassers erheblich übertrifft. Im Allgemeinen sind die Geisselfäden — selbst bei kräftiger Ausbildung — bei der Beobachtung des

---

[1]) Die einzige Ausnahme in dieser Beziehung machen solche Bakterienarten, die ausserordentlich kräftige, nach den specifischen Geisselpräparationsmethoden unter allen Umständen leicht darstellbare Geisseln besitzen. Hierhin gehört z. B. Spirillum Undula, dessen Geisseln Fig. 16 auf Taf. III (im ungefärbten Präparate) zeigt. Diese Art, im Trockenpräparate mit einer gewöhnlichen wässerig-alcoholischen Farbstofflösung behandelt, zeigt sehr häufig (nicht in jedem Präparate) die Geisseln ohne Weiteres gefärbt.

[2]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 404, 416—417.

Materials im hängenden Tropfen unsichtbar; ohne Zweifel deshalb, weil sie sich in ihrem Brechungsvermögen von dem Wasser meist nur ganz unerheblich unterscheiden.

Eine Methode, Geisselfäden zu färben, wurde ebenfalls zuerst von R. Koch ermittelt. Die Färbung gelang mit concentrirter wässeriger Lösung von Extractum campechianum[1]); mit Anilinfarben färbten sich die Geisselfäden nicht.[2]) Immerhin hat man mit Hülfe der von Koch angegebenen Methoden nur bei wenigen Arten beweglicher Bakterien Geisselfäden nachzuweisen vermocht.

Im Jahre 1889 ist dann von Loeffler[3]) ein Verfahren gefunden worden, welches die Geisseln der Färbung mit Anilinfarben ganz allgemein zugänglich gemacht und eine ganz universelle Darstellbarkeit dieser Gebilde ermöglicht hat. Loeffler behandelt die Trockenpräparate zunächst mit einer Beize; dadurch werden die Geisseln befähigt, Anilinfarbstoffe aufzunehmen.

Das Loeffler'sche Geisselfärbungsverfahren, welches der Autor später[4]) noch verbessert hat, gestaltet sich in dieser verbesserten Form folgendermassen: Das Bakterienmaterial wird, möglichst frei von schleimigen oder eiweisshaltigen Beimengungen und möglichst frei von anhaftender Gelatine, mit Hülfe eines Tröpfchens reinen Wassers in recht dünner Schicht mittels des Platindrahtes auf dem absolut sauberen Deckglase[5]) ausgebreitet. Man lässt die Schicht lufttrocken werden und fixirt das Präparat in der gewöhnlichen Weise, indem man es drei Mal durch die Flamme zieht (p. 59). Zu starkes Erhitzen hat man hierbei sorgfältig zu vermeiden. Darauf filtrirt man auf das mit einer Pincette horizontal gehaltene Deckglas so viel einer (weiterhin noch zu besprechenden) Beizflüssigkeit auf, dass das ganze Gläschen davon bedeckt ist, und lässt diese Flüssigkeit kurze Zeit ($^1/_2$ bis 1 Minute) auf das Bakterienmaterial einwirken.[6])

---

[1]) Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1877. p. 419.

[2]) Cf. p. 74, Anm. 1: Kräftige Geisseln nehmen die Färbung häufig ohne Weiteres an.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 8/9.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 20.

[5]) Am besten erreicht man diese Beschaffenheit des Deckglases, wenn man, wie bereits oben (p. 46, Anm. 2) angegeben, das mit Alcohol abgeputzte und dann getrocknete Deckglas in der Flamme stark erhitzt. Nach dem Erkalten kann es dann benutzt werden.

[6]) Loeffler hat angegeben, dass die Beize unter mässiger Erwärmung einwirken soll: Man hält das Deckglas in einiger Entfernung über die Flamme, bis die Flüssigkeit schwach zu dampfen beginnt. Nach meinen Erfahrungen kann man die Erwärmung der Beize völlig entbehren. Die bei Zimmertemperatur ein-

Dann spült man mit reinem Wasser (am besten unter dem dünnen Strahle der Wasserleitung) das Deckgläschen sorgfältigst ab. Nun bläst man das an der Schicht noch anhaftende Wasser herunter (cf. p. 63) und trocknet das Gläschen in der gewöhnlichen Weise, als ob man es in Balsam einschliessen wollte. Darauf fasst man das Gläschen wiederum mit der Pincette und bringt einige Tropfen einer passenden[1]) Farblösung auf die zu färbende Schicht. Es folgt leichte Erwärmung über der Flamme (bis die Farblösung Dämpfe zu entwickeln beginnt); nach mehreren Minuten spült man die Farbflüssigkeit mit Wasser sorgfältig ab, trocknet das Präparat in gewohnter Weise und schliesst es in Xylolbalsam ein.

Zur Herstellung der Beize löst man (unter Erwärmen) 2 g Tannin in 8 ccm Wasser und setzt zu der Lösung 5 ccm einer kalt gesättigten wässerigen Ferrosulfat-(Eisenvitriol-)Lösung und 1 ccm einer gesättigten alcoholischen Fuchsinlösung. Nach dem Umschütteln ist die Beize ohne Weiteres[2]) gebrauchsfähig, und sie hält sich Wochen und Monate in diesem gebrauchsfähigen Zustande.

Damit die Geisselfärbung nach der geschilderten Methode gelingt, hat man noch eine Reihe von wesentlichen Punkten zu beachten. Der wichtigste, allerwesentlichste Punkt, auf den es zum Gelingen der Geisselfärbung ankommt, ist die passende Beschaffenheit des Bakterienmaterials. Wenn wir eine eigenbewegliche Bakterienart cultiviren und die Cultur in verschiedenen Stadien ihres Wachsthums untersuchen, so finden wir durchgehend, dass die Bakterienzellen, so

wirkende Beize giebt eben so gute Resultate wie die ganz mässig erwärmte. Auf jeden Fall hat man sich vor zu starker Erhitzung der Beize auf das Sorgfältigste zu hüten, weil sonst die Präparate unweigerlich verdorben werden.

[1]) Vergl. die über diesen Punkt im Text oben weiter folgenden Bemerkungen.

[2]) Loeffler hat angegeben, dass die so bereitete Beize wohl für manche Bakterienarten ohne Weiteres zu gebrauchen sei, dass aber die meisten Arten noch eines Zusatzes zur Beize bedürften, der die chemische Reaction der letzteren verändert: einzelne Arten erforderten eine sauer reagirende Beize, andere eine alkalisch reagirende, damit ihre Geisseln fähig würden Anilinfarbstoffe aufzunehmen. Ich habe mich von der Stichhaltigkeit dieser Forderung nicht überzeugen können. Es scheint mir auf die Reaction der Beize nicht in der von Loeffler ausgesprochenen Weise anzukommen. An den nach Loeffler so ausserordentlich empfindlichen Typhusbacillen z. B., behufs deren Geisselfärbung ein ganz bestimmter, tropfenweise abgestimmter Zusatz von 1 proc. Natronlauge zur Beize nothwendig sein sollte, gelang es mir ohne Weiteres mit einer durch Schwefelsäure kräftig angesäuerten Beize die Geisseln darzustellen. Auch Luksch (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 430) hat diese Erfahrung gemacht. Offenbar kommt es zum Gelingen der Geisselfärbung im Allgemeinen auf andere Dinge viel mehr an als auf die Reaction der Beize. (Siehe oben im Text weiter.)

lange die Cultur noch sehr jung ist, mehr oder weniger lebhafte Eigenbewegung zeigen, und dass mit zunehmendem Alter der Cultur diese Eigenbewegung allmählich träger wird. Ferner bemerkt man, dass in der ganz jungen Cultur die Eigenbewegung ein Attribut aller oder der meisten Zellen ist, während bei dem Aelterwerden der Cultur allmählich immer mehr und mehr Zellen die Eigenbeweglichkeit verlieren und dann nur noch hier und da einzelne Zellen diese Eigenbewegung darbieten. Schliesslich kommt dann ein Zeitpunkt, wo die Eigenbewegung überhaupt völlig erloschen ist; das braucht aber durchaus noch nicht zu bedeuten, dass die Cultur abgestorben ist. Ohne Zweifel handelt es sich hier nur um die ersten Zeichen der Degeneration; eine Uebertragung auf frischen Nährboden hat in diesem Zeitpunkte gewöhnlich wieder die Entwickelung einer frischen, lebenskräftigen, eigenbeweglichen Cultur zur Folge. Für das praktische Vorgehen bei der Herstellung eines Geisselpräparates ergiebt sich aus dem Vorhergehenden, dass es ausserordentlich darauf ankommt, in welchem Zeitpunkte eine bestimmte Cultur zur Präparation verwendet wird. Denn wir werden nur dann erwarten dürfen, im mikroskopischen Präparate die Geisselfäden gut zu Gesicht zu bekommen, wenn dieselben überhaupt in lebenskräftigem Zustande vorhanden sind. Bestimmte allgemeine Vorschriften lassen sich bezüglich des für die Präparation passenden Zeitpunktes nicht geben; denn die eine Bakterienart wächst (ceteris paribus) schneller als die andere; bei der ersteren werden degenerative Zustände also auch früher eintreten als bei der letzteren. Es giebt aber ein sehr einfaches Mittel, sich davon zu überzeugen, ob eine vorliegende Cultur momentan für die Präparation der Geisselfäden geeignet ist, d. h. ob sie gerade jetzt lebenskräftige Geisseln aufweist: die Untersuchung des Materials im hängenden Tropfen. Finden wir hierbei die Bakterien in frischer, lebendiger Bewegung, so ist das ein Zeichen dafür, dass lebenskräftige Geisseln vorhanden sind; ist die Bewegung eine matte und träge, so sind bereits degenerative Zustände vorhanden, und wir brauchen in diesem Falle gar nicht erst den Versuch der Geisselfärbung zu machen.

Ein zweiter wichtiger Punkt, auf den übrigens Loeffler gleich von Anfang an hingewiesen hat, ist der, dass das Bakterienmaterial in möglichst dünner Schicht und in möglichst reinem Zustande auf dem Deckglase ausgebreitet wird. Anhaftende schleimige oder eiweissartige Beimengungen, anhaftende Gelatine etc. färben sich stets mit und machen dadurch die Präparate unbrauchbar. Aus diesem Grunde empfiehlt es sich gewöhnlich nicht, das Material aus Gelatineculturen zu entnehmen. Auch Bouillonculturen sind nicht zu gebrauchen, wenn man saubere Präparate haben will. Dagegen eignen sich vortrefflich

Agar-Oberflächenculturen; das Material lässt sich von diesen leicht ohne Verletzung des Nährbodens entnehmen, und man bekommt so die Bakterienzellen so rein, wie es überhaupt möglich ist.

Was die Wahl der Farblösung angeht, die man nach der Beizung des Materials anzuwenden hat, so ist im Allgemeinen zu sagen, dass sich unsere kernfärbenden Anilinfarbstoffe sämmtlich zur Geisselfärbung benutzen lassen, und dass auch alle Lösungen dieser Farbstoffe, die man sonst für die Zwecke der Kern- (resp. Bakterien-) Färbung anwendet[1], zum Zwecke der Geisselfärbung zu gebrauchen sind. Man wird natürlich in jedem Falle, wenn man zwischen zwei Farblösungen zu wählen hat, der intensiver färbenden den Vorzug geben. Ganz besonders zweckmässig sind die von Loeffler empfohlenen gesättigten Lösungen der Violette (cf. p. 61) oder des Fuchsins in Anilinwasser.[2] Diese Lösungen haben aber die Neigung, „Farbstoffniederschläge" (cf. oben p. 62) auf die Präparate ausfallen zu lassen; sie werden deshalb (ebenso wie alle Farblösungen, welche ähnliche Eigenschaften haben) zum Gebrauche auf die Präparate auffiltrirt.

Fassen wir das über die Loeffler'sche Geisselfärbung Gesagte in der Form eines kurzen Receptes zusammen, so würde sich die Herstellung eines Geisselpräparates in folgender Weise gestalten:

1) Das event. zu benutzende Material wird im hängenden Tropfen geprüft. (Nur im Falle vorhandener lebhafter Beweglichkeit der Bakterienzellen eignet sich dasselbe für die Geisselfärbung.)

2) Das bei der Untersuchung im hängenden Tropfen als geeignet befundene Material wird (event. unter Zuhülfenahme eines Tröpfchens reinen Wassers) in möglichst dünner Schicht und in möglichst reinem Zustande (cf. oben p. 77) auf dem absolut sauberen Deckglase (cf. oben p. 46, Anm. 2) ausgebreitet.

3) Man lässt das Material antrocknen und fixirt das Präparat, indem man es (unter Vermeidung zu starker Erhitzung [cf. oben p. 75]) drei Mal durch die Flamme zieht.

4) Man filtrirt einige Tropfen der Loeffler'schen Beize (cf. oben p. 76) auf das horizontal gehaltene Deckglaspräparat und lässt die

---

[1]) Cf. Abschnitt 5 („Allgemeines über Färbung und Entfärbung").

[2]) Die Darstellung des Anilinwassers ist weiter unten in Abschnitt 5 („Allgemeines über Färbung und Entfärbung") beschrieben. Zu 100 ccm Anilinwasser giebt man 4—5 g des gepulverten Farbstoffes. Man schüttelt dann öfters um und erhält so in kurzer Zeit die gewünschte Farblösung. Eventuell kann man zu der letzteren noch eine geringe Menge Natronlauge (1 : 1000) zufügen.

Beize $^1/_2$ bis 1 Minute einwirken. Erwärmung ist hierbei nicht nöthig, event. sogar schädlich (cf. p. 75, Anm. 6).

5) Man spült die Beize, am besten mit dem dünnen Strahle der Wasserleitung, sorgfältig ab und trocknet das Präparat in der gewöhnlichen Weise durch Abblasen etc. (cf. oben p. 63).

6) Man filtrirt einige Tropfen einer passenden Farbstofflösung (cf. oben p. 78) auf das horizontal gehaltene Deckglas und erwärmt das letztere dann über einer Flamme mässig bis zu beginnender Dampfbildung. Man lässt die warme Farblösung noch c. 1 Minute einwirken und spült sie dann mit Wasser sorgfältig ab.

7) Man trocknet das Präparat und schliesst es in Xylolbalsam ein.

Nach der geschilderten Methode sind die Präparate gefärbt, welche den Photogrammen Taf. III, Fig. 17 (grosse Bacillen mit Geisselbüscheln), Taf. III, Fig. 18 (kurze Bacillen mit Geisseln), Taf. VIII, Fig. 45 (Typhusbacillen mit Geisseln), Taf. X, Fig. 57 (Cholerabacillen mit Geisseln) zu Grunde liegen.

Die Loeffler'sche Geisselfärbungsmethode färbt nicht nur die Geisseln der Bakterien und ihren Protoplasmakörper, sondern sie färbt überhaupt die gesammte Bakterienzelle in allen ihren einzelnen Theilen. Während bei der gewöhnlichen Behandlung der Präparate mit basischen Anilinfarbstoffen nur der Protoplasmakörper (der Kern) der Bakterienzelle gefärbt wird, die Hülle nur in seltenen Fällen ganz leichte Färbung annimmt, so tingirt sich bei der Behandlung mit der Loeffler'schen Methode stets auch die Membran, die Hülle der Bakterienzelle, und zwar meist in gleich intensiver Weise wie der Protoplasmakörper. Es folgt daraus, dass eine und dieselbe Bakterienzelle verschieden dick erscheinen muss, je nachdem sie nach der einen oder nach der anderen Färbungsmethode behandelt worden ist. Eine Illustration des Gesagten giebt ein Vergleich der Figuren 55 und 57 auf Taf. X. In Fig. 55 haben wir Cholerabacillen, welche einfach mit Fuchsin gefärbt sind. Hier ist also nur der Protoplasmakörper, der Kern der einzelnen Zellen gefärbt. In Fig. 57 haben wir dieselben Organismen, nach der Loeffler'schen Geisselfärbungsmethode behandelt; hier ist die Hülle mitgefärbt. Dieselben Organismen erscheinen in Fig. 57 also dicker als in Fig. 55.

4. Beobachtung der Bakterien in Schnitten. Allgemeines über Schnittbehandlung.

Will man Bakterien in Schnitten thierischen Gewebes zur Darstellung bringen, so werden die Schnitte am besten gewissen

Methoden der Färbung unterworfen. Wie wir sehen werden, gelingt es so stets, im Gewebe vorhandene Bakterien nachzuweisen. Ungefärbt lassen sich die Bakterien in Schnitten nur sehr schwer nachweisen. Die Bakterien sind im natürlichen Zustande ebenso ungefärbt wie die Gewebstheile; durch die Contouren der letzteren werden die Contouren der Bakterien verdeckt, und es gelingt, auch bei den grössten Formen, nie, in einem ungefärbten Schnitte Bakterien zu sehen, ohne dass derselbe eingreifenden Proceduren durch Einwirkung besonderer Reagentien unterworfen wird. Die Bakterien sind nun im Gegensatz zu dem thierischen Gewebe durch eine erhebliche Resistenz gegen Säuren und Alkalien ausgezeichnet, und man kann daher dadurch, dass man die Schnitte mit derartigen Reagentien behandelt, d. h. dass man die Gewebstheile mehr oder weniger zerstört, Bakterien zu sehen bekommen. Am besten eignet sich als Reagenz verdünnte Kalilauge, in der der Schnitt (unter dem Deckglase) stark erwärmt wird. Die Gewebstheile werden hierbei zerstört, die Bakterien treten hervor. Immerhin sind diese Manipulationen umständlich und führen doch nur sehr bedingungsweise zu einem Resultat. Man kann auf solche Weise wohl grosse Formen (z. B. Milzbrandbacillen) sichtbar machen, auch grosse zusammenhängende Mikrococcenhaufen zur Darstellung bringen; aber „manche, namentlich sehr kleine Bakterien werden durch diese Reagentien ebenso zerstört oder verändert wie die thierischen Gewebe, und auch in letzteren finden sich oft unbestimmbare Körnchen, die durch Säuren und Alkalien nicht beseitigt werden“ (R. Koch[1]). Ausserdem macht die bei den genannten Proceduren unvermeidliche Schädigung des Gewebes eine Beurtheilung der Lageverhältnisse der Bakterien im Gewebe vollständig unmöglich.

Man wird daher, wenn es sich um den Nachweis von Bakterien in Schnitten handelt, stets die Färbung der Bakterien in Anwendung bringen müssen.

Die Schnitte stellt man sich am besten mit Hülfe des Mikrotoms (cf. p. 47) her. Um die Organe in schnittfähige Consistenz zu bringen, überträgt man dieselben, am besten in nicht zu grossen Stücken, aus der Leiche etc. direct in absoluten Alcohol, welcher fast ausschliesslich zur Härtung für unsere Zwecke benutzt wird. Der absolute Alcohol ist ein ausserordentlich wassergieriger, hygroskopischer Körper. Er extrahirt aus den Organen das Wasser.

---

[1]) Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig. 1887. p. 29.

bringt die Theile zum Schrumpfen und verleiht ihnen dabei eine derbere Consistenz (härtet sie). Das extrahirte Wasser resp. der in der Umgebung der eingelegten Organstücke sich bildende wasserreiche Alcohol ist nun specifisch erheblich schwerer als der absolute Alcohol und sinkt infolgedessen in dem Härtungsgefässe zu Boden. Um das zu härtende Stück dauernd unter dem Einflusse absoluten Alcohols zu belassen, muss man dasselbe also in die oberen Schichten des Alcohols placiren. Man hält es hier fest am besten durch schwimmende Korkstücke, an deren unterer Seite das zu härtende Stück mit Hülfe von Stecknadeln festgesteckt wird, oder man bringt in die unteren Partien des Alcohols resp. auf den Boden des Gefässes zunächst einen grösseren Bausch Fliesspapier, auf welchem dann das zu härtende Stück ruht.

Ist das zu untersuchende Organ entwässert (gehärtet), so schneidet man sich kleine Stücke von etwa 5 mm Höhe und 1 qcm Grundfläche davon mit scharfem Messer ab, die nun auf die glatte Querschnittfläche eines Flaschenkorkes aufgeklebt werden. Das Aufkleben geschieht bequem mit einer dicken wässerigen Lösung von Gummi arabicum. Man verfährt dabei so, dass man das aufzuklebende Stück zunächst etwa eine halbe Minute an der Luft liegen lässt, um den oberflächlich anhaftenden Alcohol verdunsten zu lassen, und dass man es dann mit der Pincette fasst und es mit einer der (getrockneten) Breitseiten in einen Tropfen der Gummilösung, welche man auf der Korkfläche ausgebreitet hat, hineindrückt. Man giesst dann zunächst einige Tropfen Alcohol über das gesammte aufgeklebte Stück, welche an den Seiten desselben abfliessen und die äusseren Partien der hervorgequollenen Gummilösung durch Wasserentziehung erhärten. Dadurch wird es dann ermöglicht, den Kork in umgekehrter Lage (das aufgeklebte Stück nach unten) in ein Gefäss mit absolutem Alcohol zu übertragen, ohne dass das Stück sich vom Korke loslöst. In dem Alcohol wird dasselbe dann belassen, bis das Wasser aus allen Theilen der Gummilösung entfernt ist, was in zwei bis sechs Stunden der Fall ist. Dann ist zwischen dem aufgeklebten Stücke und dem Korke eine sehr feste, steinharte Verbindung hergestellt; und der Kork kann nun in der Klemme des Mikrotoms fest eingespannt werden, das aufgeklebte Stück kann (unter Benetzung des Messers mit absolutem Alcohol) geschnitten werden. Man hat hierbei darauf zu achten, dass die Schärfe des Messers nicht mit den harten Gummitheilen in Collision geräth, da sie sonst leiden würde. Hervorgequollene Gummitheile müssen deshalb (mit einem Messer) vor dem Mikrotomiren entfernt werden.

Statt des Gummi arabicum kann auch Fischleim zur Aufklebung der Organstücke auf Kork genommen werden. C. Fraenkel[1]) empfiehlt zu dem Zwecke eine Mischung von 1 Gelatine, 2 Wasser, 4 Glycerin.

Will man dünne Objecte, die sich nicht zum Aufkleben eignen (z. B. Darm), mit dem Mikrotom zerlegen, so empfiehlt es sich, dieselben zwischen Stücken von gut gehärteter Amyloidleber zu placiren und mit diesen in die Klammer des Mikrotoms einzuspannen. Die Leber wird dann mit dem Darm etc. zugleich geschnitten.

Für Gewebe, welche Hohlräume enthalten und sich deshalb an und für sich weniger gut zum Zerlegen in zusammenhängende Schnitte eignen, kann man mit Vortheil die Schiefferdecker'sche Celloidinmethode[2]) anwenden. Man härtet zu dem Zwecke die kleinen, zurechtgeschnittenen Stücke erst gut in absolutem Alcohol und bringt sie dann aus dem letzteren in eine dicke Celloidinlösung (das Celloidin ist ein collodiumähnlicher Körper, welcher sich in absolutem Alcohol sowohl wie in einer Mischung von Alcohol und Aether löst). Hier bleiben die Stücke einen bis mehrere Tage bis zur völligen Durchtränkung mit der Celloidinlösung. Sie werden dann mit der Pincette herausgenommen und, mit einer Schicht der dicken Lösung noch umhüllt, mit Hülfe der letzteren direct auf die Korkfläche geklebt. Nach einigen Minuten kommt das Präparat mit dem Kork in 60proc. Alcohol, in welchem es wieder einen bis mehrere Tage verbleibt. Hier nimmt das Celloidin und mit ihm das ganze Präparat Schnittconsistenz an. Dann wird der Kork, wie oben angegeben, eingespannt, und das Präparat lässt sich nun mit dem Mikrotom (unter Benetzung des Messers mit 60proc. Alcohol) sehr schön in zusammenhängende Schnitte zerlegen. Jeder der Schnitte ist von einem „Celloidinmantel" umhüllt, die Hohlräume des Schnittes werden ebenfalls von Celloidin ausgefüllt. Das Celloidin bleibt dann während der folgenden Färbung etc. mit dem Schnitte in stetiger Verbindung. Das Celloidin färbt sich mit Anilinfarben.

Zum Herstellen feinster Schnitte, die allerdings zum Zwecke der Untersuchung des Gewebes auf Bakterien kaum je nöthig werden dürften, muss man die Organe in Paraffin einbetten. Es ist aber, um an den Paraffinschnitten eine Bakterienfärbung vornehmen zu können, durchaus nothwendig, das Paraffin zunächst (durch Xylol) vollständig zu entfernen und die Schnitte dann durch Alcohol (zur

---

[1]) Grundriss d. Bakterienk. 3. Aufl. 1890. p. 79.

[2]) Arch. f. Anat. 1882.

Extrahirung des Xylols) gehen zu lassen. Nur in den seltensten Fällen dürfte aber, wie gesagt, die Anwendung der Paraffinmethode für unsere Zwecke nöthig werden.

Dünner als 0,02 mm braucht man die Mikrotomschnitte für Bakterienuntersuchungen nicht zu machen; derartige Schnitte lassen sich bei guter Härtung des Objectes und bei gutem Zustande des Messers stets erreichen. Aber auch mit dickeren Schnitten (0,03—0,05 mm) kann man oft noch auskommen. Während des Schneidens wird (bei den mit Gummi oder Gelatine aufgeklebten und bei den zwischen Amyloidleberstücken eingeklemmten Organen) das Mikrotommesser stets mit absolutem Alcohol befeuchtet erhalten. Die Schnitte werden mit einem Pinsel von der Klinge herunter genommen und in ein Schälchen mit absolutem Alcohol übertragen.

Um die Schnitte nun zu färben, bringt man sie zunächst auf kurze Zeit in Wasser, von da in die Farblösung. Als Farbflüssigkeiten kann man alle jene Flüssigkeiten verwenden, die wir oben (p. 62) zur Färbung des Trockenpräparates verwandt haben. Wir müssen nur stets darauf sehen, dass wir eine wässerige resp. stark wasserhaltige Flüssigkeit zur Anwendung bringen. Besonders zu empfehlen ist für Schnittpräparate die Loeffler'sche alkalische Methylenblaulösung[1]), ein Gemisch von

30 ccm concentrirter alcoholischer Methylenblaulösung und
100 ccm wässeriger Kalilösung (1 : 10 000).

Die Loeffler'sche Methylenblaulösung ist, wie Methylenblaulösungen überhaupt (cf. oben p. 62), dadurch vor anderen Farbflüssigkeiten ausgezeichnet, dass sie ganz unbeschränkt haltbar und von ganz unveränderlicher Gebrauchsfähigkeit ist. Diese Farblösung soll auf unserem Arbeitstische nie fehlen.

Wenn man nun einen Schnitt aus einem thierischen Organ in eine der genannten Farbflüssigkeiten bringt und denselben nach einer Reihe von Minuten wieder herausnimmt und in Wasser abspült, so wird man in der Regel nichts weiter zu sehen bekommen als eine intensiv und gleichmässig gefärbte Masse, in der Details nicht oder kaum zu erkennen sind: das Gewebe hat sich zunächst in allen seinen Theilen mit dem Farbstoffe vollgesogen und beladen. Erst eine weitere Behandlung des Schnittes mit gewissen (weiterhin zu besprechenden) Flüssigkeiten, welche die Fähigkeit haben, den Farbstoff mehr oder weniger aus dem Schnitte zu extrahiren, lässt einzelne gefärbte Partien in dem Präparate vor anderen weniger gefärbten hervortreten. Liesse man

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-A. Bd. 2. 1884. p. 439.

solche Flüssigkeiten genügend lange Zeit auf den Schnitt einwirken, so würden sie allmählich eine vollständige Entfärbung des Schnittes zu Wege bringen. Lässt man sie aber nur kurze Zeit einwirken, überwacht man ihre Wirkung, so erhält man Präparate, in denen nur die Zellkerne und die (eventuell vorhandenen) Bakterien noch gefärbt sind, während die Intercellularsubstanz und auch das Zellprotoplasma wieder entfärbt sind.

Man findet so, dass die verschiedenen Bestandtheile, aus denen sich das thierische Gewebe zusammensetzt, keine principiellen Unterschiede in dem Verhalten gegen die basischen Anilinfarbstoffe zeigen. Nicht der eine Bestandtheil wird gefärbt, während der andere der Färbung widersteht; wohl aber bestehen quantitative Unterschiede in der Färbbarkeit der einzelnen Componenten des Gewebes, die sich darin äussern, dass, bei einem bestimmten Grade der Einwirkung farbstoffextrahirender Flüssigkeiten, unter den ursprünglich gleichmässig gefärbten verschiedenen Bestandtheilen der eine den aufgenommenen Farbstoff noch festhält, während ein anderer ihn vollständig oder beinahe vollständig wieder verloren hat. Man kann so die verschiedenen Gewebsbestandtheile in eine Färbbarkeitsscala bringen, welche, wenn man mit denjenigen, die am leichtesten den Farbstoff wieder loslassen, beginnt, sich folgendermassen gestaltet:

Intercellularsubstanz,
Zellprotoplasma,
Zellkerne,
Bakterien (wenn sie vorhanden sind).

Die farbstoffextrahirenden Flüssigkeiten (als solche kommen besonders Säuren und Alcohol zur Verwendung) bezeichnet man als „Entfärbungsmittel.“ Durch sie wird eine „Differenzirung“ herbeigeführt, d. h. einzelne Theile (Kerne, Bakterien) des Schnittes treten in isolirter Färbung vor anderen Theilen, die die Färbung verloren haben, hervor.

Ist der zuerst diffus gefärbte Schnitt genügend „entfärbt“, „differenzirt“, so ist er eigentlich fertig; da wir ihn aber schliesslich in Canadabalsam zur Conservirung einschliessen wollen, der Balsam sich aber mit irgendwie wasserhaltigen Flüssigkeiten nicht vermischen lässt, so muss zunächst aller und jeder Wassergehalt aus dem Schnitte entfernt werden; und dies geschieht durch Behandlung des Schnittes in absolutem Alcohol. Der Schnitt macht also noch ein Mal eine Entwässerung oder Härtung durch. Aber auch mit Alcohol lässt sich Balsam nicht mischen. Wir müssen deshalb den Schnitt aus dem Alcohol in eine Flüssigkeit bringen, welche auf der

einen Seite die Fähigkeit hat, sich mit Alcohol zu vermischen, auf der anderen Seite aber sich auch mit Canadabalsam resp. dem von uns stets angewandten Xylol-Balsam (cf. p. 64) mischt. Derartige Körper (auch „Aufhellungsmittel" genannt) giebt es nun eine ganze Reihe. Besonders ölige Flüssigkeiten sind mit den gewünschten Eigenschaften ausgestattet. Am meisten verwandte man früher das Nelkenöl zu diesem Zwecke, aber auch Terpentinöl, Cedern-, Origanum-, Zimmet-, Bergamott-, Anis-Oel, Phenol, Anilin[1]) waren und sind hierzu im Gebrauch. Ich möchte für unsere Zwecke ganz ausschliesslich einen anderen, ebenfalls seit Langem gebräuchlichen, Körper empfehlen: das Xylol (cf. p. 64). Das Xylol ist ein Körper, der sich gegen mit basischen Anilinfarben gefärbte Kerne und Bakterien vollständig indifferent verhält und sich in dieser Hinsicht sehr rühmlich von verschiedenen der oben genannten Flüssigkeiten, speciell auch von dem Nelkenöl, unterscheidet, und der ohne jeden Rückstand verdunstet und nicht verharzt und schmiert, wie es z. B. ebenfalls das Nelkenöl thut. Wir behandeln den gefärbten, dann „entfärbten" und entwässerten Schnitt also mit Xylol.

Mit dem Xylol durchtränkt sich der Schnitt sehr schnell, und er wird dann mit Hülfe eines Spatels auf die Mitte des reingeputzten Objectträgers übertragen.

Nachdem das überschüssige Xylol von dem Schnitte durch vierfach zusammengefaltetes Fliesspapier, welches man in Berührung mit dem Schnittrand gebracht hat, abgesogen ist, wird ein Tropfen Balsam (Xylol-Balsam) auf den Schnitt gebracht, darauf mit der Pincette (cf. p. 65) das Deckglas gelegt, unter welchem sich dann der Balsam ausbreitet.[2])

Will man eine genaue Vorschrift für die practische Ausführung des geschilderten Verfahrens der Schnittfärbung und -Conservirung (welches übrigens im Principe mit dem alten Weigert'schen Verfahren[3]) völlig übereinstimmt) haben, so wird man eine solche in folgendem Schema finden:

---

[1]) Das Phenol und das Anilin haben auch die Fähigkeit, geringe Mengen Wassers aufzulösen. Bei der (weiterhin noch zu besprechenden) Gram-Weigert-schen Methode wird das Anilin als Entwässerungsmittel verwandt. Dem Xylol kommt, wie gegentheiligen, gelegentlich zu findenden Angaben gegenüber hier ausdrücklich bemerkt sein mag, irgend welche Fähigkeit, Wasser aufzunehmen, nicht zu.

[2]) Wie beim Trockenpräparat, so wird man sich natürlich auch hier aus den oben (p. 65) angeführten Gründen hüten müssen, zu viel des Balsams zu nehmen.

[3]) cf. Virch. Arch. Bd. 84. 1881. p. 275 ff.

Der Schnitt wird aus einem Uhrschälchen in das andere mit der Nadel übertragen.

1. Uebertragen der Schnitte aus Alcohol in Wasser für 1 Minute.
2. In eine passend zusammengesetzte (cf. p. 83) Farblösung 2—5 Minuten.
3. Wasser 5 Minuten.
4. Dünne Essigsäure (etwa 1:1000[1]) 1 Minute.
5. Absoluter Alcohol (Schnitt gut ausbreiten!) 1/2 Minute.
6. Absoluter Alcohol 1/2 Minute.
7. Xylol 1/2 Minute.
8. Uebertragen auf den Objectträger mit dem Spatel.
9. Abtupfen mit Fliesspapier.
10. Aufbringen eines Tropfens Xylol-Balsam.
11. Auflegen des Deckglases (mit der Pincette).

Zu diesem Schema ist noch zu bemerken: Wir benutzen zur Aufnahme unserer Flüssigkeiten, in die die Schnitte kommen sollen, am besten Uhrschälchen (cf. oben p. 46). Dieselben kommen stets rein geputzt und trocken zur Anwendung. Die Schnitte übertragen wir stets mit der Nadel aus einer Flüssigkeit in die andere, nicht mit dem Spatel, weil wir möglichst wenig Flüssigkeit mit übertragen wollen. Erst wenn die Schnitte aus dem Xylol auf den Objectträger kommen sollen, benutzen wir den Spatel. Der stumpfwinklig gebogene Spatel (cf. oben p. 47) wird in der linken Hand gehalten und unter den in dem Xylol liegenden Schnitt flach hinuntergeführt; man nimmt hier die in der rechten Hand gehaltene Nadel zu Hülfe, mit welcher man den Schnitt auf die Spatelfläche hinaufschiebt. Indem man dann den Schnitt mit Hülfe der Nadel an dem Spatel etwas festdrückt, hebt man den Spatel horizontal, d. h. mit dem Schnitte und einer Quantität Xylol beladen (das man nicht abfliessen lässt), aus der Flüssigkeit heraus und legt ihn sofort auf den Objectträger auf, auf den man nun mit Hülfe der Nadel den Schnitt von dem Spatel hinüberschiebt oder zieht. Die mitübertragene Menge Xylol erleichtert ein glattes Hinübergleiten des Schnittes auf den Objectträger sehr. Bei dem folgenden Abtupfen des Xylols von dem Schnitte muss man darauf sehen, dass der Schnitt nicht etwa zu trocken wird, weil er sonst nach dem Einschlusse in Balsam Luftblasen einschliesst, die die Beobachtung sehr stören können. Es soll also nur der sichtbare flüssige Ueberschuss des Xylols mit dem Fliesspapier entfernt werden.

Den Alcohol giesst man sich in seine Schälchen ein erst un-

---

[1]) Ich halte mir eine etwa 5 proc. wässerige Essigsäurelösung vorräthig, von der ich einige Tropfen auf ein Uhrschälchen mit Wasser gebe.

mittelbar bevor man ihn gebraucht. Der Alcohol ist ein Entwässerungsmittel. Wir müssen ihn deshalb zum Gebrauche möglichst wasserfrei haben. Wenn man aber den Alcohol eingiesst und ihn erst in einer Viertelstunde benutzt, so hat man keinen Alcohol mehr, sondern ein Gemisch von Alcohol und Wasser, welches letztere der Alcohol aus der Luft angezogen hat, und welches vollständig genügt, um den Alcohol unfähig zu machen, die gewünschte Entwässerung herbeizuführen. Wenn wir aber den Schnitt in Xylol bringen wollen, so muss er zuvor wirklich völlig wasserfrei gemacht werden; ein Schnitt, der noch Spuren von Wasser enthält, scheidet dieses Wasser im Xylol sofort aus, und diese Wasserausscheidungen, welche dem Schnitt dann dauernd anhaften, machen das schönste Präparat oft unbrauchbar. Aus diesem Grunde habe ich in dem obigen Schema den Alcohol auch zwei Mal hinter einander angeführt: die Entwässerung soll vollständig sein.

Zum Gelingen einer guten Schnittfärbung ist es stets nothwendig, dass die einzelnen Theile des Schnittes gleichmässig der Einwirkung der verschiedenen Flüssigkeiten ausgesetzt werden. Der Schnitt soll also sowohl in der Farblösung wie in den übrigen Flüssigkeiten möglichst glatt, ohne Falten zu schlagen, liegen. Denn jede Falte bedingt einen ungleichmässigen Zutritt der einwirkenden Flüssigkeit an der gefalteten Stelle und damit auch ein mehr oder weniger unerwünschtes Resultat. Ganz besonders hat man auf eine möglichst glatte Ausbreitung des Schnittes zu sehen in dem Augenblicke, in welchem derselbe aus der Essigsäure in den ersten Alcohol gelangt. Der Schnitt ist hier in den ersten Secunden noch dehnbar und lässt sich mit zwei Nadeln sehr gut glatt ausbreiten. Versäumt man dies aber, lässt man den Schnitt in zufällig zu Stande gekommener Faltung liegen, so wird er durch den Alcohol in dieser Lage fixirt und lässt sich nachher auf keine Weise wieder glatt ausbreiten.[1]) Die Form, die der Schnitt in dem ersten Alcohol annimmt, behält er weiterhin unverändert bei.

Was bezüglich der Einwirkung der Reagentien auf gefaltete Schnitt-

[1]) Streng genommen ist dies nicht ganz richtig. Ein Mittel, einen solchen in gefalteter Lage fixirten Schnitt wieder glatt zu machen, giebt es doch: Man bringt den gefalteten Schnitt aus dem Alcohol wieder in eine wässerige Flüssigkeit resp. in reines Wasser zurück. Er begiebt sich hier, da er mit dem specifisch leichteren Alcohol getränkt ist, sofort an die Oberfläche und breitet sich gleichzeitig aus: in den allermeisten Fällen bekommt man auf diese einfache Weise einen untadelhaft glatten Schnitt, den man nachher von Neuem zur Entwässerung in Alcohol etc. übertragen muss. Es ist jedoch zu beachten, dass der Schnitt bei dem geschilderten Zurückbringen in Wasser jedesmal etwas von seiner Färbung verliert.

stellen gilt, das gilt natürlich ebenso für Zusammenlagerungen von mehreren Schnitten. Behandelt man eine Anzahl von Schnitten gleichzeitig in demselben Schälchen, so ist es ein Zufall, wenn man gute Resultate erhält; denn die Schnitte lagern sich gern zusammen und gestatten den Flüssigkeiten an dieser Stelle mehr, an jener weniger Zutritt. So müssen ungleichmässige Resultate zu Stande kommen. Man mache es sich deshalb zur Regel, die Schnitte einzeln, individuell zu behandeln.

Auch bei Schnitten findet übrigens wie bei Trockenpräparaten (cf. p. 73) die Färbung schneller statt und wird intensiver bei höherer als bei niedrigerer Temperatur. Man darf aber nur ganz mässig erhöhte Temperaturen zu Schnittfärbungen verwenden, höchstens Temperaturen von 40—50° C. (R. Koch[1]). Bei höheren Temperaturen schrumpfen die Schnitte ein und werden unbrauchbar.

Bei den hier geschilderten Methoden der Schnittbehandlung wird der Schnitt behufs der Conservirung in Canadabalsam stets in Alcohol entwässert und gelangt dann durch einen mit Alcohol sowohl wie mit Canadabalsam mischbaren Körper hindurch (Xylol) in den Balsam. Für bestimmte Zwecke (speciell zur Conservirung von Lepraschnitten) hat Unna[2]) eine erheblich abweichende Methode der Schnittbehandlung angegeben, welche er „Trockenmethode" oder auch „Antrocknungsmethode" genannt hat. Die Schnitte gelangen dabei nach der Färbung und Differenzirung nicht in Alcohol, sondern in Wasser, werden von hier mit dem Spatel auf den Objectträger übertragen, mit Fliesspapier abgetrocknet und dann über der Flamme schnell bis zu vollständiger Trockenheit erhitzt. Nach dem Abkühlen wird mit einem Tropfen Balsam das Deckgläschen aufgekittet. Wir werden Gelegenheit haben, diese für manche Zwecke ganz ausgezeichnete Methode noch zu besprechen.

Auch bei der weiterhin noch zu nennenden Weigert'schen Modification des Gram'schen Verfahrens wird die Differenzirung und Entwässerung des Schnittes auf dem Objectträger vorgenommen.

Was nun die mikroskopische Betrachtung der gefärbten Schnittpräparate angeht, so ist es anzuempfehlen, stets zunächst eine Durchmusterung des Präparates mit schwachem System vorzunehmen. Nur auf diese Weise wird man unter Umständen etwa vorhandene Bakterien mit Sicherheit auffinden können. Es giebt zwar

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 10.

[2]) Monatshefte f. pract. Dermatologie. Ergänzungsheft. 1885. — Centralbl. f. Bakter. Bd. 3. 1888. p. 314.

genug Fälle, in denen wir die Bakterien an jeder Stelle des Schnittes antreffen; in anderen Fällen aber treten die Bakterien in einzelnen zerstreuten Herden auf, und diese können, wenn man a priori mit starkem Objectiv untersucht, sehr leicht sich der Auffindung entziehen. Im Uebrigen gelten für die Einstellung des Präparates die oben (p. 54 und 67) bezüglich der Beleuchtung gegebenen Grundsätze: Da es sich um gefärbte Objecte handelt, die wir betrachten wollen, so nehmen wir den vollen Abbe'schen Condensor; den Trieb des Condensors stellen wir so ein, dass die Beleuchtung maximal ist.

Ein nach der angegebenen Methode angefertigtes, gut gelungenes Präparat zeigt Bakterien und Gewebskerne gefärbt, die übrigen Theile mehr oder weniger ungefärbt. Die eigenthümliche Form der Bakterien, ihre Grössenverhältnisse, ihre Gruppirung zu kleineren oder grösseren Verbänden oder Haufen macht eine Verwechselung der Bakterien mit gefärbten Theilen des thierischen Gewebes kaum möglich. Anlass zu Verwechselungen in dieser Hinsicht haben die von Ehrlich[1]) entdeckten, in normalem und pathologischem Gewebe vorkommenden „Mastzellen“ gegeben. Diese Zellen besitzen einen (bei der Färbung mit Anilinfarbstoffen ungefärbt bleibenden) Kern, um den herum ein Haufen intensiv färbbarer Körner gruppirt ist. Diese Körner sind häufig für Mikrococcen gehalten worden. „Doch sind die Körnchen gewöhnlich von ungleicher Grösse. Dieses letztere Verhalten, das Vorhandensein eines Kernes und der Vergleich mit anderen ebensolchen Zellen sichern indessen leicht ihre Diagnose.“ (Koch.[2]) Gelegentlich findet man die Mastzellen auch in Trockenpräparaten (Ausstrichpräparate von Organen); in solchen Präparaten sind die Mastzellen dann häufig zerquetscht, die Körner zerstreut. Derartige Befunde könnten noch leichter als Mastzellen in Schnitten zur Verwechselung mit Mikrococcen Veranlassung geben. Aber auch hier ist nach meinen Erfahrungen die richtige Beurtheilung unter Benutzung der angeführten Kriterien nicht schwer.

Selbstverständlich erscheinen bei der mikroskopischen Betrachtung eines jeden Schnittpräparates diejenigen Gewebstheile und speciell auch diejenigen Bakterien dem Auge am besten und klarsten, welche in den obersten Schichten des Schnittes liegen. Für Demonstrationszwecke, ferner zum Zwecke der photographischen Darstellung etc. wird man möglichst dementsprechend gelegene Stellen auszusuchen haben.

[1]) Arch. f. mikroskop. Anatomie. Bd. 13. 1877. p. 263.
[2]) Unters. üb. d. Aetiol. d. Wundinfect.-Krankheiten. Leipzig. 1878. p. 38.

5. Allgemeines über Färbung und Entfärbung. Leicht und schwer färbbare und entfärbbare Objecte.

In den vorhergehenden Abschnitten haben wir gesehen, dass die Bakterien ganz im Allgemeinen die Eigenschaft haben, aus geeigneten Lösungen basischer Anilinfarbstoffe den Farbstoff aufzunehmen, sich zu färben; wir sahen weiter, dass dieselbe Eigenschaft auch den Zellkernen des thierischen Gewebes zukommt. Es machte bezüglich des principiellen Vorgehens bei der Färbung auch keine Unterschiede, ob die Bakterien am Deckglase angetrocknet oder ob dieselben im Gewebsschnitt vertheilt gefärbt werden sollten. Die anzuwendenden Lösungen waren dieselben, und hier wie dort erfolgte die Färbung in kürzester Zeit. Dass Trockenpräparate sich im Allgemeinen schneller färben als Schnitte, liegt nicht etwa an einer principiellen Verschiedenheit der zu färbenden Objecte selbst, sondern nur an der verschiedenen Art der äusserlichen Disponirung dieser Objecte. Das Trockenpräparat stellt eine dünne, trockene Schicht dar, welche beim Benetzen mit wässerigen Flüssigkeiten, also auch beim Benetzen mit den Farbstofflösungen, aufquillt und sich in dem letzteren Falle begierig mit der Farbstofflösung vollsaugt. Beim Schnitte hingegen haben wir eine grössere Gewebsmasse vor uns, welche mit Alcohol oder Wasser durchtränkt ist. Diese durchtränkenden Flüssigkeiten müssen dann beim Einbringen des Schnittes in die Farblösung erst durch Diffusion entfernt werden.

Die eigentliche „Färbung" der einzelnen Bakterienzellen erfolgt also, gleichgültig ob ein Schnitt oder ein Trockenpräparat vorliegt, im Allgemeinen in kürzester Zeit — vorausgesetzt, dass man passende Farblösungen anwendet. Mehrmals haben wir bereits betont, dass diese Lösungen *wässerige* sein müssen. Es lässt sich nun leicht nachweisen[1]), dass *rein alcoholische Lösungen*, d. h. *Lösungen der Farbstoffe in absolutem Alcohol, überhaupt nicht die Spur bakterien- und kernfärbender Eigenschaften haben*.

Man stelle sich irgend welches Trockenpräparat durch Verreiben von Bakterienmaterial auf dem Deckglase, durch Ausstreichen von Blut, Eiter etc. auf demselben, dar. Man fixire es in der gewöhnlichen Weise. Das absolut trockene Deckglas fasse man mit absolut trockener Pincette und gebe nun auf die angetrocknete Schicht mehrere Tropfen einer concentrirten Lösung eines basischen Anilinfarbstoffes in absolutem Alcohol. Nach einigen Secunden spüle man das Deckglas mit absolutem

---

[1]) Diesen Nachweis habe ich 1890 (1. Auflage dieses Buches p. 71) geführt.

Alcohol ab. Die Schicht ist *vollständig ungefärbt* geblieben. Die Bakterien resp. die Kerne der Eiterzellen etc. haben nicht vermocht aus der alcoholischen Lösung Farbstoff aufzunehmen, trotzdem dass diese Lösung procentisch so viel Farbstoff enthält wie keine auf irgend welche sonstige Weise darstellbare Lösung. Ich will bemerken, dass man, nach dem Aufbringen der Farblösung auf das Präparat, dasselbe, um die Färbung eventuell zu beschleunigen, in die Flamme halten kann, so dass die Farblösung anfängt zu brennen. Entfernt man dann das Präparat aus der Flamme und spült es nach dem Ausblasen der brennenden Farblösung mit absolutem Alcohol ab, so ist das Resultat dasselbe wie vorher: die Schicht ist ungefärbt geblieben.

Nun könnte zwar Jemand einwerfen, durch das Abspülen mit Alcohol, der das beste Lösungsmittel dieser Farbstoffe ist, werde die zu Stande gekommene Färbung vernichtet, der Farbstoff werde wieder extrahirt. Zur Entkräftung dieses Einwandes stelle man folgenden Versuch an: Ein beliebiges Trockenpräparat färbt man mit der wässerigen resp. stark wasserhaltigen Lösung eines basischen Anilinfarbstoffes; man spült die Lösung darauf mit Wasser ab und macht das Präparat durch Abblasen etc. in der gewöhnlichen Weise trocken, als ob man es in Balsam conserviren wollte. Das Präparat ist jetzt gefärbt. Nun legt man das absolut trockene, mit absolut trockener Pincette gefasste Deckglas in absoluten Alcohol. Der Alcohol wird nicht die Spur von Farbstoff zu extrahiren vermögen. Erst nach längerem Liegen an der Luft, wenn der Alcohol Wasser aufgenommen hat, beginnt eine ganz leichte, allmählich stärker werdende Extraction des Farbstoffes. *Der absolute Alcohol ist unfähig, dem gefärbten Präparate Farbstoff zu entziehen.*[1])

Und was von Trockenpräparaten gilt, das gilt von Schnittpräparaten ganz ebenso. Nur ist es viel schwerer, sich wirklich absolut trockene Schnitte herzustellen. Ich habe zur Klarstellung dieser wichtigen principiellen Fragen Schnitte aus Alcohol mit Hülfe des Spatels auf den Objectträger gebracht. Dort habe ich sie an der Luft antrocknen lassen und nun noch über der Flamme den Objectträger leicht erwärmt, um möglichst jede Spur hygroskopisch anhaftenden Wassers zu entfernen. Nach dem Erkalten wurden die Schnitte mit

---

[1]) An dieser Stelle möchte ich bemerken, dass (was nach dem Vorstehenden eigentlich selbstverständlich ist) der *absolute Alcohol auch aus gefärbten Geisseln den Farbstoff nicht zu extrahiren vermag.* Wenn man diese Thatsache demonstriren will, so ist es nothwendig, das der Geisselfärbung (cf. oben p. 75 ff.) unterworfene Deckglaspräparat in trockenem Zustande zunächst in absoluten Alcohol, aus demselben dann in Xylol zu bringen und dann in Balsam einzuschliessen.

concentrirter, rein alcoholischer Farblösung übergossen und nach wenigen Secunden mit absolutem Alcohol abgespült. Auch hier derselbe Effect: Ausbleiben jeder Färbung. — Dann habe ich Schnitte in wässerigen Lösungen längere Zeit gefärbt, aus der Farblösung direct auf den Objectträger gebracht, durch Aufpressen von Fliesspapier abgetrocknet und dann lufttrocken werden lassen, event. unter leichter Erwärmung. Dann sprangen die Schnitte leicht vom Glase ab oder liessen sich leicht abziehen. Der trockene Schnitt wurde dann in absoluten Alcohol versenkt. Ganz, ganz allmählich kam hier eine Extraction des Farbstoffes zu Stande, die dann mit wachsendem Wassergehalt des Alcohols, wie oben, allmählich zunahm.

Rein alcoholische Lösungen der basischen Anilinfarbstoffe sind also vollständig unfähig, Bakterien sowohl wie thierisches Gewebe zu färben, und andererseits ist der absolute Alcohol unfähig, den Farbstoff aus gefärbten Bakterienzellen und aus gefärbten Zellen thierischen Gewebes zu extrahiren.

Wenn trotzdem gerade der absolute Alcohol als „Entfärbungsmittel" zum „Differenziren" von gefärbten Schnitten empfohlen wird (speciell durch Weigert)[1]), so ist diese Wirkung des Alcohols darauf zurückzuführen, dass er hier auf Gewebe einwirkt, welche mit wässeriger Flüssigkeit (Farblösung) durchtränkt sind, dass der Alcohol hier also thatsächlich nicht als absoluter, sondern als mit Wasser verdünnter Alcohol zur Wirkung kommt. Der mit Wasser in gewissem Grade verdünnte Alcohol ist aber ein ausgezeichnetes Mittel, die Anilinfarbstoffe aus den Zellen zu extrahiren. Es kommen hier zwei Eigenschaften desselben zur Geltung: erstens der Wassergehalt, welcher die Flüssigkeit befähigt, die Bakterien oder thierischen Zellen etc. zum Aufquellen zu bringen, und zweitens der Alcoholgehalt, welcher die Flüssigkeit so viel geeigneter zur Lösung der Farbstoffe macht, als es das Wasser selbst ist.

Und was für den Alcohol als Entfärbungsmittel gilt, das gilt auch für den Alcohol als Constituens von Farblösungen. Einen wässerig durchtränkten Schnitt können wir auch in einer rein alcoholischen Farblösung färben, aber nicht weil die letztere an und für sich färbende Eigenschaften hätte, sondern weil sich bei dem Zutritt derselben zu dem Schnitte eine verdünnte alcoholische Farblösung bildet, die die Färbung bewirkt. Ebenso können wir ein trockenes Trockenpräparat mit rein alcoholischer Farblösung färben, wenn wir zum

---

[1]) Virch. Arch. Bd. 84. 1881. p. 275 ff.

Abspülen der Farblösung nicht Alcohol, sondern Wasser nehmen. Die im Momente des Abspülens sich bildende verdünnte alcoholische Lösung bewirkt die Färbung.

Hinsichtlich der hier aufgestellten principiellen Eigenschaften des absoluten Alcohols ist zu bemerken, dass einerseits bereits Weigert[1]) darauf aufmerksam gemacht hat, dass man die Schnitte „über eine Stunde (bei intensiver Färbung noch länger) in Alcohol lassen kann, ohne dass sie die Kern- und Bakterienfärbung abgeben“, und dass andererseits Friedländer[2]) betont hat, dass „ein grösserer Zusatz von Alcohol als etwa 10 % zu der Farblösung das Färbungsvermögen derselben beeinträchtigt.“ Dass aber der Alcohol als solcher gar keine entfärbenden und rein alcoholische Farblösungen gar keine färbenden Eigenschaften haben, ist, so viel ich weiss, zuerst von mir ausgesprochen worden.

Wir werden derartige Eigenschaften des Alcohols und alcoholischer Lösungen nur durchaus verständlich finden müssen. Die Bakterienzelle ebenso wie die thierische Gewebszelle ist nur in Wasser quellbar, nie in absolutem Alcohol. Damit die Zelle aber aus irgend welcher mit ihr in Berührung kommenden Flüssigkeit Bestandtheile in sich aufzunehmen vermag, muss sie in der Flüssigkeit zunächst in gewissem Grade aufzuquellen vermögen. Wir sehen hier sehr enge Analogien zwischen den Vorgängen, die sich bei der Färbung einer Zelle abspielen, und denjenigen, die bei der Einwirkung antiseptischer Flüssigkeiten auf die Zelle in Frage kommen.[3]) Wie wir bereits oben (p. 30) mittheilten, fand R. Koch[4]), dass eine alcoholische Lösung von Carbolsäure nicht die geringste Einwirkung auf die Keimfähigkeit von Milzbrandsporen hat, während wässerigen Lösungen derartige Einwirkungen sehr wohl zukommen.

Nach Erledigung dieser principiell wichtigen Angelegenheit wollen wir uns mit den verschiedenen Punkten beschäftigen, welche von allgemeiner Bedeutung bei der Bakterienfärbung sind. Es sind dies drei Punkte:

1) die Qualität der Farblösung,
2) die Temperatur, bei der die Färbung vorgenommen wird,
3) die Zeitdauer der Einwirkung der Farblösung.

---

[1]) Virch. Arch. Bd. 84. 1881. p. 280.

[2]) Mikroskopische Technik. 3. Aufl. Berlin 1886. p. 47.

[3]) Auch noch in anderer Hinsicht bestehen Analogien zwischen diesen beiden Arten von Vorgängen (cf. p. 73, Anm. 4).

[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 251.

Bezüglich des 2. resp. 3. Punktes gilt es ganz allgemein, dass die Färbung um so schneller vor sich geht, je höher die Temperatur ist, und dass sie desto intensiver wird, je länger wir die Farblösung auf das Object einwirken lassen.

Bezüglich des ersten Punktes haben wir bereits erörtert, dass sich rein alcoholische Lösungen gar nicht zur Färbung eignen, dass sich aber Gemische aus einem Theile derartiger Lösungen und etwa 10 Theilen Wasser ausgezeichnet zur Färbung eignen. Wir haben ferner gesehen, dass die Loeffler'sche Methylenblaulösung (cf. p. 83), welche ebenfalls eine wässerig-alcoholische ist, aber einen ganz geringen Zusatz von kaustischem Kali enthält, sich ganz besonders gut zu Färbungen eignet.

Es hat sich nun gezeigt, dass das Färbungsvermögen der wässerig-alcoholischen Lösungen überhaupt durch bestimmte Zusätze sehr erheblich gesteigert werden kann. Mehrere solcher intensiv färbenden Tinctionsflüssigkeiten sind seit Jahren in Gebrauch und haben sich sehr bewährt. Dahin gehört an erster Stelle die Ehrlich'sche Lösung, welche mit Fuchsin oder mit den Violetten hergestellt werden kann, und die ursprünglich zur Färbung der Tuberkelbacillen construirt wurde, ferner die Ziehl'sche Lösung, welche mit Fuchsin hergestellt wird.

Die Ehrlich'sche Lösung [1]) ist eine Mischung einer concentrirten wässerigen Anilinlösung mit concentrirter alcoholischer Farbstofflösung. Sie wird folgendermassen dargestellt:

4 ccm Anilin (Anilinöl) werden mit
100 ccm Wasser

geschüttelt. Hierbei wird die grösste Menge des Anilins gelöst. Man filtrirt nun durch ein mit Wasser vollständig angefeuchtetes Filter (angefeuchtet deshalb, damit die ungelösten öligen Anilintröpfchen auf dem Filter zurückgehalten werden) und setzt dann zu dem klaren Filtrate („Anilinwasser")

11 ccm concentrirte alcoholische Fuchsin- (oder Gentiana-violett- oder Methylviolett-) Lösung.

Die Mischung wird geschüttelt. Diese Ehrlich'schen Lösungen setzen in den ersten Stunden nach ihrer Bereitung Farbstoffniederschläge ab. Schnitte, die unmittelbar nach der Herstellung der Flüssigkeit mit derselben behandelt werden, zeigen, gleichgültig ob man die Farbmischung filtrirt oder unfiltrirt zur Anwendung gebracht hat, ihre Oberfläche

---

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 270.

mit kleinsten Farbstoffniederschlägen bedeckt, die zu entfernen (ohne die Färbung im Uebrigen zu schädigen) es kein Mittel giebt. Nach 24 Stunden jedoch hat die Lösung sich geklärt, und nun stellt sie ein sehr gutes, allgemein anwendbares Färbungsmittel dar. Die Ehrlich'schen Lösungen werden mit Vortheil, wie hier schon bemerkt sein mag, zur Färbung von Tuberkelbacillen in Deckglastrockenpräparaten, die von Sputum hergestellt sind, angewendet. Die Nachbehandlung dieser Präparate bringt es mit sich, dass für diesen Zweck die Ehrlich'schen Lösungen auch ganz frisch, eben dargestellt, gebraucht werden können. Die Ehrlich'schen Lösungen halten sich mehrere Wochen, manchmal sogar einen Monat brauchbar. Allmählich jedoch wird eine derartige Lösung missfarbig, hell; der Farbstoff setzt sich als schmieriger Belag auf dem Boden und an der Wand des Gefässes ab, und die Flüssigkeit muss dann verworfen und durch neue ersetzt werden.

Die Ziehl'sche Lösung[1]) ist eine Mischung von 5 procentiger wässeriger Carbolsäurelösung mit alcoholischer Fuchsinlösung. Man stellt sie dar durch inniges Verreiben von

1 g Fuchsin mit
100 ccm 5 proc. wässeriger Carbolsäurelösung unter allmählichem Zusatze von
10 ccm Alcohol.

Die Ziehl'sche Carbolsäure-Fuchsinlösung hat ebenfalls ein ausserordentliches Tinctionsvermögen, kommt aber darin den Ehrlich'schen Lösungen sicher nicht gleich. Die Ziehl'sche Lösung ist dauernd haltbar. In diesem Punkte, durch den sich die Ziehl'sche Lösung von den Ehrlich'schen Lösungen wesentlich unterscheidet, liegt übrigens gerade ein Grund des geringeren Färbungsvermögens der Ziehl'schen Lösung gegenüber den Ehrlich'schen. Unna[2]) hat nämlich auf das allgemein gültige Gesetz aufmerksam gemacht, dass diejenigen Farblösungen am intensivsten färben, in denen der Farbstoff am schlechtesten gelöst ist, ohne jedoch ausgefällt zu werden. Unna hat diesen Zustand einer Farblösung mit dem Ausdruck der „Schwebefällung" belegt. Bei den Ehrlich'schen Lösungen ist dieser Zustand der Schwebefällung vorhanden, bei der Ziehl'schen Lösung nicht. Ich würde deshalb überall da, wo es darauf ankommt, eine möglichst intensive Färbung zu erreichen, die Ehrlich'schen Lösungen verwenden und eventuell die Mühe nicht

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 451.
[2]) Centralbl. f. Bakter. Bd. 3. 1888. p. 254.

scheuen, mir dieselben frisch darzustellen; nur im Nothfalle würde ich als Ersatz zu der Ziehl'schen Lösung greifen, die immer vorräthig und jederzeit gebrauchsfertig im Laboratorium gehalten werden kann.

Einen noch höheren Grad des Färbungsvermögens hat Loeffler[1]) den Ehrlich'schen Lösungen dadurch verliehen, dass er den Alcohol bei ihrer Zusammensetzung ganz wegliess und etwas Natronlauge zufügte. Loeffler setzte sich zur Färbung der Geisseln an Bakterien, die zunächst mit einer Beize behandelt waren (cf. oben p. 75), die Farblösung ursprünglich folgendermassen zusammen:

Zu 100 ccm concentrirtem Anilinwasser[2]) wird
1 ccm 1 procentige Natriumhydratlösung zugefügt.

Das Gemisch wird mit

4—5 g festem Fuchsin (oder Methylviolett oder Methylenblau) tüchtig geschüttelt.

Diese Farbflüssigkeit dürfte an Intensität des Färbungsvermögens von keiner der bekannten Farblösungen übertroffen werden. Man sieht ohne Weiteres, dass hier ein noch höherer Grad der Unna'schen „Schwebefällung" bestehen muss als bei den Ehrlich'schen Lösungen, da ja der Zusatz des Alcohols, des ausgezeichnetsten Lösungsmittels unserer Farbstoffe, fehlt.

Unerwähnt will ich übrigens nicht lassen, dass H. Kühne[3]) als Universalbakterienfärbungsmittel eine Carbolmethylenblaulösung (dargestellt aus 1,5 g Methylenblau, 10 ccm Alcohol und 100 ccm 5 procentigem Carbolwasser) angegeben und empfohlen hat.

In dem quantitativ verschiedenen Färbungsvermögen der citirten Farblösungen einerseits, andererseits in der verschiedenen Zeitdauer der Einwirkung dieser Lösungen auf das Object und in der verschieden hohen Temperatur, bei der dies geschieht, haben wir die Momente, welche für die Intensität der zunächst resultirenden Färbung von Bedeutung sind.

Es hat sich nun die wichtige Thatsache herausgestellt, dass sich nicht alle Bakterienobjecte einer und derselben Farblösung gegenüber gleichartig, der Färbung gleichmässig zugängig, verhalten. Verfeinerte Methoden werden ohne Zweifel in dieser Beziehung vielfache Differenzen zwischen den verschiedenartigen Objecten auffinden, die uns heute noch unbekannt sind. Wie die Dinge heute stehen, kann man im

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 8/9.

[2]) Dargestellt wie bei der Bereitung der Ehrlich'schen Lösungen.

[3]) Praktische Anleitung zum mikroskopischen Nachweis der Bakterien im thierischen Gewebe. Leipzig. 1888.

Allgemeinen nur unterscheiden zwischen solchen Objecten, die den Farbstoff leicht aufnehmen, und solchen, die ihn schwer aufnehmen; oder anders ausgedrückt: wir haben zu unterscheiden zwischen leicht färbbaren Objecten und schwer färbbaren Objecten. „Leicht färbbar" wollen wir solche Objecte nennen, die, mit wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen bei gewöhnlicher Temperatur behandelt, im Trockenpräparat die Färbung innerhalb weniger Secunden, im Schnitte innerhalb weniger Minuten annehmen, „schwer färbbar" solche, die unter denselben Bedingungen die Färbung noch nicht annehmen, zu deren Färbung es intensiver wirkender Methoden bedarf.

Ganz allgemein gilt es ferner, dass diejenigen Objecte, die den Farbstoff leicht annehmen, denselben auch leicht wieder abgeben, dass andererseits diejenigen, die ihn nur bei intensiverer Behandlung mit der Farblösung aufnehmen, ihn auch energischer festhalten, weniger leicht abgeben. Wir können das auch so ausdrücken: Die leicht färbbaren Objecte sind auch leicht entfärbbar, die schwer färbbaren auch schwer entfärbbar. Oben haben wir definirt, was wir unter „leicht färbbar", „schwer färbbar" verstehen. Was verstehen wir aber unter „leicht entfärbbar", „schwer entfärbbar"? Um diese Fragen zu beantworten, müssen wir uns über die Mittel, die uns zur Entfärbung der gefärbten Zelle zu Gebote stehen, informiren.

Absoluter Alcohol extrahirt, wie auseinandergesetzt, den Farbstoff aus der gefärbten, trockenen Zelle nicht. Wird der Alcohol aber mit Wasser verdünnt, so tritt eine Extraction des Farbstoffes ein. Dieselbe erfolgt aber nicht momentan, sondern langsam und allmählich. Wir können gefärbte Schnitt- sowohl wie Trockenpräparate ihres Farbstoffgehaltes allmählich vollständig berauben, wenn wir sie in verdünnten Alcohol legen und darin liegen lassen. Die Gründe für die in dieser Beziehung verschiedene Wirkung des absoluten und des verdünnten Alcohols haben wir oben (p. 92) auseinandergesetzt. Der mit Wasser verdünnte Alcohol ist also ein Extractionsmittel für den Farbstoff, ein Entfärbungsmittel. Viel schwächer als verdünnter Alcohol wirkt blosses Wasser; aber auch das blosse Wasser ist ein Entfärbungsmittel. Es vermag in die Zelle einzudringen und den Farbstoff einigermassen zu extrahiren. Sehr energisch wirkt im Vergleich zu den genannten Mitteln der öfters wiederholte Wechsel zwischen Alcohol und Wasser. Man wird wohl nicht fehlgehen, wenn man die intensiven Diffusionsströme, die hier in und an dem Objecte auftreten müssen, für die Extractionswirkung wesentlich mit verantwortlich macht.

Die stärksten Entfärbungsmittel aber bilden die Säuren. Schon eine ganz verdünnte Essigsäure hat intensiv entfärbende Eigenschaften. Verdünnte Salz-, Salpeter-, Schwefelsäure wirken noch stärker. Ganz besonders stark entfärbend wirken die Säuren in Verbindung mit Alcohol. Für unseren Arbeitstisch möchte ich als stets vorräthig zu haltende Entfärbungsmittel empfehlen:

1) 5procentige wässerige Essigsäurelösung. Dieselbe kann ohne Weiteres verwendet, aber auch mit mehr oder weniger Wasser verdünnt zur Anwendung gebracht werden.

2) 20procentige wässerige Salpetersäurelösung.

3) 3procentigen Salzsäure-Alcohol (100 Alcohol absolutus, 3 Salzsäure).

Von manchen Seiten wird auch Salpetersäure-Alcohol empfohlen. Ich möchte dieser Empfehlung weniger das Wort reden; denn die Salpetersäure bewirkt sehr leicht Oxydationen des Alcohols, und man hat dann im gegebenen Falle häufig ein undefinirbares Gemisch verschiedener Aether etc. an Stelle der Alcohol-Salpetersäuremischung. Der Salzsäure-Alcohol jedoch ist unverändert haltbar.

Unter „leicht entfärbbaren" Objecten verstehe ich nun solche, welche die Färbung bei der Behandlung mit 20procentigem Salpetersäurewasser oder mit 3procentigem Salzsäure-Alcohol in kürzester Zeit (Secunden bis Minuten) verlieren; unter „schwer entfärbbaren" solche Objecte, die die Färbung unter diesen Bedingungen behalten.

Man kann folgende Sätze aufstellen:

1) Leicht färbbar und leicht entfärbbar sind (es färben sich in wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen bei gewöhnlicher Temperatur in kürzester Zeit, und es entfärben sich in 20proc. Salpetersäurewasser und ebenso in 3proc. Salzsäure-Alcohol in kürzester Zeit):
   a) Bakterien [excl. Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und Bacillensporen].
   b) Zellkerne.

2) Schwer färbbar und schwer entfärbbar sind (es färben sich nur bei Anwendung intensiver wirkender Methoden, und es entfärben sich, einmal gefärbt, nicht bei kurzer Einwirkung von 20proc. Salpetersäurewasser oder 3proc. Salzsäure-Alcohol):
   Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und Bacillensporen.

Worin die intensiver wirkenden Methoden bestehen, ergiebt sich von selbst, wenn wir die oben (p. 93) dargelegten Momente in Erwägung ziehen, welche für die Intensität der Färbung in Betracht

kommen. Um intensiv färbend einzuwirken, werden wir uns zunächst solcher Farblösungen bedienen müssen, denen besonders grosse Tinctionskraft zukommt, d. h. also der Ehrlich'schen Lösungen, event. auch der Ziehl'schen Lösung; hiermit werden wir in den meisten Fällen das Ziel erreichen. Kommt es auf ganz besonders intensive Einwirkung an, so werden wir uns die von Loeffler (cf. p. 96) angegebenen alkalischen Anilinwasserfarblösungen, die alcoholfrei sind, darstellen müssen. Diese intensiv wirkenden Lösungen werden wir dann, und das ist das zweite Moment, nicht bei gewöhnlicher Temperatur, sondern bei höherer Temperatur auf das Object einwirken lassen, und wir werden (dritter Punkt) nicht kurze, sondern längere Zeit die Einwirkung andauern lassen. Berücksichtigen wir im gegebenen Falle alle drei Punkte, die Qualität der Farblösung, die Temperatur und die Zeit, so wird die Intensität der Färbung ihr Maximum erreichen. Gewöhnlich aber genügt es, die intensiv färbende Flüssigkeit bei höherer Temperatur kürzere Zeit oder bei gewöhnlicher Temperatur längere Zeit einwirken zu lassen. Das erstere wird sich besonders für Trockenpräparate, das letztere besonders für Schnitte empfehlen. Deckglastrockenpräparate können wir, ohne dieselben zu schädigen, mit kochender Farbstofflösung behandeln, so lange wir wollen. Schnitte vertragen, wie oben (p. 88) gesagt, höchstens Temperaturen bis etwa 40—50° C.

Die schwer färbbaren Bakterienobjecte, die Tuberkel- (und Lepra-) Bacillen und die Bacillensporen, verhalten sich nun hinsichtlich der Zugänglichkeit für den Farbstoff verschieden. Die Leprabacillen setzen dem Eindringen des Farbstoffes den geringsten Widerstand entgegen. Sie können sich sogar manchmal, wenigstens in einzelnen Exemplaren, wie leicht färbbare Bakterien verhalten, und es ist diese Eigenschaft von Baumgarten[1]) zu einer mikroskopischen Differentialdiagnose zwischen Lepra- und Tuberkelbacillen verwandt worden. Die Tuberkelbacillen verhalten sich erheblich resistenter gegen das Eindringen des Farbstoffes. Am resistentesten verhalten sich die Bacillensporen. Die letzteren bedürfen also zum Zustandekommen der Färbung der relativ intensivsten Behandlung. Sind die genannten Objecte einmal gefärbt, haben sie den Farbstoff einmal aufgenommen, so geben sie denselben an die Entfärbungsmittel, wie erwähnt, nicht leicht wieder ab, während andere Theile des Präparates, denen die Eigenschaft der leichten Färbbarkeit zukommt, sich bei derartiger Behandlung mit Entfärbungsmitteln wieder entfärben. Es resultirt dann

[1]) Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 1. 1884.

naturgemäss eine isolirte Färbung der vorhandenen schwer färbbaren Objecte; und damit ist dann auch die Möglichkeit gegeben, die wieder entfärbten, leicht färbbaren Theile secundär mit einer gegen die Färbung der schwer färbbaren Objecte contrastirenden Färbung, mit einer Contrast- (Gegen- oder Grund-) Färbung, zu versehen. Man kann so Präparate mit Doppelfärbung herstellen. Bei primärer Fuchsinfärbung wählt man als Gegenfarbe Methylenblau, bei primärer Violettfärbung als Gegenfarbe Bismarckbraun oder Carmin. Wir können auf diese Weise z. B. in einem Tuberkelbacillenschnittpräparate die Tuberkelbacillen fuchsinroth, die Kerne des Gewebes methylenblau färben; wir können uns Trockenpräparate von tuberculösem Sputum herstellen, in welchen die Tuberkelbacillen violett, die übrigen vorhandenen Bakterien und die Kerne der Eiterzellen etc. bismarckbraun gefärbt sind; wir können sporenhaltige Milzbrandfäden so färben, dass die Sporen fuchsinroth, das Bacillenprotoplasma methylenblau erscheinen.

Auf die Sporenfärbung werden wir bei Gelegenheit der Betrachtung des Milzbrandbacillus, auf die Tuberkelbacillenfärbung bei Gelegenheit des Tuberkelbacillus des Näheren eingehen.

6. Die Gram'sche Methode der Kernentfärbung.

Wir wir gesehen haben, lassen sich Bakterien, welche in Schnitten thierischen Gewebes enthalten sind, durch die Färbung mit basischen Anilinfarbstoffen sehr leicht der Beobachtung zugänglich machen. Wir brauchen einen solchen Schnitt nur in eine der angegebenen Farblösungen zu legen und hinterher abzuwaschen und mit schwachen Entfärbungsmitteln zu behandeln, um die Bakterien gefärbt zu Gesicht zu bekommen. Freilich sind die Kerne des Gewebes stets mitgefärbt. Würden wir auf den gefärbten Schnitt stärkere Entfärbungsmittel einwirken lassen, z. B. 3proc. Salzsäure-Alcohol, oder würden wir die schwächeren Entfärbungsmittel längere Zeit einwirken lassen, so würden allerdings die Kerne ihre Färbung verlieren; zu gleicher Zeit aber würden auch die Bakterien ihre Färbung abgeben und verblassen. Wollen wir also in einem Schnitte die Bakterien gefärbt haben, so müssen wir eine Kernfärbung mit in den Kauf nehmen; es sei denn, dass es sich um die schwer färb- und entfärbbaren Tuberkel- (oder Lepra-) Bacillen handelte; die specifischen Eigenthümlichkeiten dieser Bakterien bringen es mit sich, dass wir sie in isolirter Färbung darstellen können.

Aus dem Schema der bisher betrachteten Färbungsmethoden fällt

nun vollständig heraus ein eigenthümliches Verfahren der färberischen Behandlung bakteriologischer Präparate, welches der dänische Forscher Christian Gram[1]) im Jahre 1884 zu Berlin entdeckte. Gram gelangte durch Zufall zu dieser Entdeckung. Er hatte nämlich, wie er angiebt[2]), versucht, in pathologisch veränderten Nierenschnitten eine Doppelfärbung dadurch herzustellen, dass er dieselben zunächst in Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolettlösung und darauf in Jodjodkaliumlösung behandelte. Die Kerne sollten violett, die Harncylinder braun gefärbt werden. Als er nun die so behandelten Schnitte in Alcohol behufs der Differenzirung und Entwässerung brachte, beobachtete er, dass die Schnitte sich vollständig und schnell entfärbten, d. h. dass die sonst in Alcohol verbleibende Kernfärbung verschwand. In dem Schnitte vorhandene Bakterien hatten sich aber hierbei nicht mit entfärbt; im Gegentheil: sie zeigten sich äusserst intensiv, dunkel tingirt. Gram hatte also ein Verfahren gefunden, die Gewebskerne zu entfärben, ohne die Bakterienfärbung anzutasten.

Das Gram'sche Verfahren ist also kein eigentliches Färbungsverfahren, sondern es ist ein Entfärbungsverfahren, und zwar ein Kernentfärbungsverfahren. Hiermit war viel gewonnen. Es war die Möglichkeit eröffnet, jede beliebige Bakterienart in isolirter Färbung im Schnitte darzustellen und nach Belieben auch eine Gegenfärbung der Kerne eintreten zu lassen. Gram fand aber sofort, dass nicht alle Bakterienarten bei der geschilderten Entfärbungsmethode ihre Färbung behalten, sondern dass es Bakterienarten giebt, welche sich bei der geschilderten Behandlung ebenso wie die Kerne des Gewebes entfärben.

Die ursprüngliche Gram'sche Vorschrift war nun die, dass die Schnitte aus Alcohol in die Ehrlich'sche Anilinwassergentianaviolettlösung für mehrere Minuten gelangen. Hierauf werden sie in eine Jodjodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser) für mehrere Minuten, darauf in Alcohol gebracht. Während sich der Schnitt in der Jodlösung glänzend schwarz gefärbt hat, giebt er in dem Alcohol sofort eine purpurrothe Farbstoffwolke ab. Wird kein Farbstoff mehr ausgezogen, so kommt der Schnitt in Nelkenöl; hier verliert er eventuell noch etwas Farbstoff. Darauf wird er in Balsam eingeschlossen.

Befolgt man diese ursprüngliche Gram'sche Vorschrift genau, so wird man meist gute Resultate erzielen; mitunter aber führt diese Behandlung nicht zu einer genügenden Entfärbung der Kerne. Es

[1]) Fortschr. d. Med. 1884. No. 6.
[2]) Ebenda. p. 186.

gelingt jedoch durch bestimmte kleine Abänderungen das Verfahren so zu gestalten, dass es unter allen Umständen zu dem gewünschten Ziele führt.

Im Jahre 1886 habe ich[1]) zuerst eine Modification des Gram'schen Verfahrens angegeben, die ich dann im folgenden Jahre ausführlich publicirt habe.[2]) Diese Modification, welche unter der Bezeichnung des „Gram-Günther'schen" Verfahrens bekannt geworden und der ursprünglichen Methode gegenüber vielfach mit Vortheil angewendet worden ist, unterscheidet sich dadurch von dem ursprünglichen Verfahren, dass nicht nur Alcohol, sondern daneben auch 3proc. Salzsäure-Alcohol zur Extraction des Farbstoffes benutzt wird: wesentlich ist aber, dass der Säurealcohol nur ganz vorübergehend zur Anwendung gelangt. In diesem Punkte bin ich von einigen Seiten missverstanden worden; man hat mehrfach angegeben, die von mir empfohlene Modification verwende Säurealcohol statt reinen Alcohols. Eine zweite Abweichung von der ursprünglichen Gram'schen Vorschrift liegt darin, dass nicht Nelkenöl (welches bei Gram eventuell noch zur Extraction des Farbstoffes diente), sondern Xylol zur Verwendung gelangt.

Das Gram-Günther'sche Verfahren gestaltet sich nun im Speciellen folgendermassen:

1) Der Schnitt gelangt aus Alcohol in (eben filtrirte) Ehrlich'sche Anilinwassergentianaviolett- (oder Methylviolett-) Lösung auf 1—2 Minuten.[3]) Die Farblösung muss mindestens 24 Stunden alt sein (cf. p. 94).

2) Herausnehmen des Schnittes mit der Nadel, Abtupfen der überschüssigen Farblösung auf Fliesspapier und Einbringen des Schnittes in Jodjodkaliumlösung (1 Jod, 2 Jodkalium, 300 Wasser) auf 2 Minuten. (Der Schnitt liegt dabei, gut ausgebreitet, auf dem Grunde des Schälchens.)

3) In Alcohol auf $^1/_2$ Minute.

4) In 3proc. Salzsäure-Alcohol auf genau 10 Secunden.

5) Mit Ablauf der 10 Secunden sofortige Uebertragung in neuen. bereits vorher bereit gestellten reinen Alcohol auf mehrere Minuten.

6) Noch ein oder mehrere Male (in nicht zu langen Pausen) Uebertragung in frischen Alcohol bis zu maximaler Entfärbung

---

[1]) In der mikroskopischen Technik von C. Friedländer, 3. Aufl. p. 50—51 (nach brieflicher Mittheilung an den Verfasser) angegeben.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22. p. 474.

[3]) Eine Ausnahme machen Tuberculose- und Lepraschnitte. Die letzteren werden $^1/_2$ Stunde, die ersteren 12—24 Stunden gefärbt.

(es darf sich schliesslich keine Farbstoffwolke mehr von dem Schnitte abheben).

7) In Xylol. Hier kann der Schnitt beliebig lange liegen. Er hält sich in dem Xylol unbegrenzt lange unverändert. Jedoch kann er, mit Xylol durchtränkt, sofort, d. h. spätestens $^1/_2$ Minute nach dem Einlegen in Xylol, übertragen werden

8) mit dem Spatel auf den Objectträger.

9) Nach Abtupfen des Xylolüberschusses wird ein Tropfen Xylol-Balsam aufgebracht und auf diesen das Deckglas gelegt.

Will man eine Gegenfärbung der Kerne erzielen, so kann man, wie das Gram that, die in Alcohol entfärbten Schnitte auf einen Augenblick in wässerige Bismarckbraunlösung tauchen, dann wieder in Alcohol entwässern und nach der Passage durch Xylol in Balsam einschliessen. Häufig bekommt man so ganz gute Resultate. Manchmal aber verlieren die Bakterien bei dieser Manipulation etwas von der Präcision ihrer Färbung, und bei Erysipel-Schnitten werden die Coccen, wie ich gefunden habe, bei dieser Gelegenheit sogar vollständig entfärbt. Es empfiehlt sich also die nachträgliche Grundfärbung mit Bismarckbraun im Allgemeinen durchaus nicht.

Ein anderes Verfahren der Grundfärbung bei der Gram'schen Schnittbehandlung ist jedoch für alle Fälle durchaus zu empfehlen. Bei diesem Verfahren wird die Kernfärbung vor der Bakterienfärbung vorgenommen. Die ungefärbten Schnitte gelangen hier aus Alcohol

1) in Wasser auf mehrere Minuten, darauf

2) in Picrocarminlösung[1]) 1—2 Minuten.

3) Sie werden darauf in vier- bis fünfmal erneuertem Wasser ausgewaschen und dann

4) in Alcohol gebracht.

Die Schnitte haben nun eine wundervolle Kernfärbung (Carmin) angenommen. In dem Alcohol können sie beliebig lange, ohne sich zu verändern, aufbewahrt werden. Man kann sie dann zu beliebiger Zeit der Gram'schen resp. Gram-Günther'schen Behandlung unterwerfen, die genau so ausgeführt wird, als wenn es sich um vollständig

[1]) Die Lösung stellt man sich nach Friedländer (Mikroskopische Technik. 3. Aufl. 1886. p. 35) so dar, dass man eine Lösung von Carmin in Ammoniak (1 Carmin, 1 Ammoniak, 50 Wasser) zurecht macht und zu dieser soviel concentrirte wässerige Picrinsäurelösung zusetzt, bis der entstehende Niederschlag (Carmin) beim Umrühren nicht mehr gelöst wird. Eine Spur Ammoniakzusatz löst den Niederschlag wieder auf. Diese Vorschrift hat sich mir stets bewährt.

ungefärbte Schnitte handelte. Die Carminfärbung der Kerne wird durch die Gram'sche Behandlung in keiner Weise alterirt.

Wie wir oben schon angaben, bleiben bei der Kernentfärbung nach der Gram'schen Methode eine Reihe von Bakterienarten gefärbt; eine andere Reihe von Arten theilen das Schicksal der Kerne und entfärben sich. Man sagt von den ersteren auch: „Sie färben sich nach der Gram'schen Methode“, von den anderen „sie färben sich nicht nach der Gram'schen Methode.“ Man sagt auch einfach „sie färben sich nach Gram“ resp. „nicht nach Gram“. Es ist aber zu betonen, dass eine jede Bakterienart sich entweder auf die eine oder auf die andere Seite stellt. Eine Zwischenstufe in dem Verhalten giebt es nicht.

Von den pathogenen Bakterienarten färben sich nach Gram (d. h. bleiben gefärbt, während sich die Kerne entfärben):

der Milzbrandbacillus,
der Tuberkelbacillus,
der Leprabacillus,
der Diphtheriebacillus, [1])
der Bacillus der Mäusesepticaemie und des Schweinerothlaufs.
der Tetanusbacillus,
die Streptococcen (Erysipel, Pyaemie, Phlegmone),
der Staphylococcus pyogenes aureus,
der Diplococcus pneumoniae A. Fraenkel,
der Micrococcus tetragenus.

Ausserdem gehört in diese Gruppe

der Actinomyces bovis s. hominis.

Es färben sich nicht nach Gram (d. h. entfärben sich zusammen mit den Kernen):

der Typhusbacillus,
der Rotzbacillus,
der Bacillus des malignen Oedems,
der Rauschbrandbacillus,
der Bacillus der Septicaemia haemorrhagica (Hühnercholera, Kaninchensepticaemie, Schweineseuche, Rinder- und Wildseuche),
der Kommabacillus der Cholera asiatica,
der Bacillus pneumoniae Friedländer,
der Gonorrhoecoccus,
die Spirochaete des Recurrensfiebers.

---

[1]) In den früheren Auflagen dieses Buches findet sich der Diphtheriebacillus irrthümlicher Weise zu denjenigen Bakterienarten gestellt, die sich nach Gram nicht färben.

Haben wir oben angegeben, dass in Schnitten, die sich für die Gram'sche Behandlung eignen, die Kerne sich bei dieser Behandlung entfärben und allein die Bakterien gefärbt zurückbleiben, so müssen wir dieser Angabe jetzt eine gewisse Einschränkung auferlegen. Es giebt, von den Bakterien abgesehen, bestimmte Bestandtheile des Gewebes, welche bei der Gram'schen Entfärbung die einmal angenommene Färbung stets beibehalten. Dies sind:

1) die sogenannten Kerntheilungsfiguren,
2) die Mastzellenkörner (cf. p. 89),
3) die Hornschicht der Epidermis.

Ferner halten auch die serösen Ueberzüge der Organe und die angrenzenden Zonen der letzteren der Gram'schen Behandlung gegenüber die Färbung ausserordentlich fest.

Es ist hier zu bemerken, dass von pflanzlichen Objecten nicht etwa nur bestimmte Bakterienarten bei der Gram'schen Entfärbung gefärbt bleiben, sondern auch andere Dinge, z. B. Hefezellen etc.

Die Gram'sche Methode ist übrigens nur auf ganz bestimmte Farbstoffe beschränkt. Mit Fuchsin, mit Methylenblau, mit Bismarckbraun wird man nie Resultate bekommen. Einzig und allein anwendbar sind die sogenannten Pararosaniline. Wir verdanken diese Kenntniss Unna, welcher die bei der Gram'schen Methode in Betracht kommenden Verhältnisse zum Gegenstande einer ausführlichen Studie[1]) gemacht hat. Den Pararosanilinen, zu denen Methylviolett, Gentianaviolett und Victoriablau gehören, stehen die Rosaniline gegenüber. Beide Gruppen leiten sich ab von dem aus dem Methan CH_4 abgeleiteten Triphenylmethan $C(C_6H_5)_3H$, aus dem durch Einführung dreier Amidogruppen und einer Hydroxylgruppe das farblose Pararosanilin oder Triamidotriphenylkarbinol $C(C_6H_4 \cdot NH_2)_3OH$ wird. Das salzsaure Salz des letzteren ist eins der färbenden Pararosaniline und hat die Zusammensetzung $C(C_6H_4 \cdot NH_2)_2 \cdot C_6H_4 \cdot NH_2Cl$.

Die Rosaniline unterscheiden sich dadurch von den Pararosanilinen, dass statt einer der drei Phenylgruppen eine Toluylgruppe (statt C_6H_5 also $C_6H_4 \cdot CH_3$) in das Methan eintritt.

Wie gesagt, sind nur die Pararosanilinverbindungen (Methylviolett, Gentianaviolett, Victoriablau) für die Behandlung nach Gram anwendbar. Der Grund hierfür ist nach Unna die starke Verwandtschaft, welche diese Farbstoffe zu dem Jod besitzen.

---

[1]) Die Rosaniline und Pararosaniline. Eine bakteriologische Farbenstudie. Dermatologische Studien. Viertes Heft. Hamburg und Leipzig. 1887.

Die genannten Farbstoffe muss man aber stets in Gestalt der Ehrlich'schen Lösung, d. h. in Anilinwasser gelöst, zur Anwendung bringen; sonst bekommt man keine Resultate.

Man kann übrigens, wie ich gefunden habe, die Gram'sche Methode resp. meine Modification dieser Methode auch mit der oben (p. 88) bereits erwähnten Unna'schen Antrocknungsmethode combiniren. Speciell für Lepraschnitte habe ich dies mit Vortheil gethan. Die Schnitte werden zu dem Zwecke, nach der maximalen Entfärbung in Alcohol, nicht in Xylol, sondern (entweder direct oder nach vorheriger Behandlung mit Wasser) mit dem Spatel auf den Objectträger gebracht, dort dann nach der Unna'schen Vorschrift angetrocknet und dann in Balsam eingeschlossen.

Auch für Deckglaspräparate kann man die Gram'sche Methode verwenden. Doppelfärbungen, in der oben (p. 103) angegebenen Weise unter Anwendung von Picrocarmin hergestellt, geben hier (bei Ausstrichpräparaten von Gewebssaft etc.) oft die schönsten Bilder. Man geht bei der Färbung von Deckglaspräparaten nach Gram am besten so vor, dass man das (event. mit Picrocarmin vorgefärbte, dann mit Wasser abgespülte und wieder getrocknete) Präparat c. $^{1}/_{2}$ Minute mit Ehrlich'scher Gentianaviolettlösung, dann (ohne es abzuspülen) c. 1 Minute mit der Jodjodkaliumlösung, dann (am besten unter Bewegen) eine Reihe von Minuten — bis zu maximaler Entfärbung — in Alcohol behandelt; dann wird das Präparat schnell unter dem Strahl der Wasserleitung abgespült, abgeblasen, getrocknet und in Xylolbalsam eingeschlossen.

Hervorheben will ich übrigens, dass die Gram'sche Behandlung bei den Bakterien nur den Protoplasmakörper, nie die Kapseln, gefärbt zur Anschauung bringt.

Ausser meiner Modification der Gram'schen Methode sind noch mehrere andere Modificationen angegeben worden, unter denen besonders die oben (p. 88) bereits erwähnte Weigert'sche „Methode zur Färbung von Fibrin und von Mikroorganismen"[1]) sich bewährt und ausgedehnte Anwendung gefunden hat. Weigert färbt den Schnitt in Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolettlösung, spült ihn in Wasser oder Kochsalzlösung ab, bringt ihn dann mit dem Spatel auf den Objectträger, tupft ihn mit Fliesspapier ab, behandelt ihn darauf mit der oben genannten Jodjodkaliumlösung, tupft ihn wieder ab, betropft ihn mit Anilin (Anilinöl), welches die Differenzirung bewirkt und den Schnitt zugleich entwässert (cf. p. 85, Anm. 1).

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1887. No. 8.

Dann wird das Anilin mit Xylol entfernt und der Schnitt in Balsam eingeschlossen. Das Fibrin, Hyalin etc. werden bei dieser Behandlung intensiv blau, die Mikroorganismen dunkelviolett.

Unna hat empfohlen, die ursprüngliche Gram'sche Vorschrift dahin abgeändert anzuwenden, dass man das Jod nicht als solches der Jodkaliumlösung zusetzt, sondern dass man dasselbe mit Hülfe von Wasserstoffsuperoxyd, welches der Jodkaliumlösung zugefügt wurde, in die Gewebe einführt.

V.

Allgemeine Methodik der Bakterienzüchtung.

1. Einleitendes.

Wenn es sich darum handelt, Genaueres über irgend welche Bakterien zu erfahren, die sich in der Natur irgendwo uns darbieten, sei es innerhalb des erkrankten Thierkörpers, sei es innerhalb eines bestimmten Trinkwassers oder an irgend einem anderen Orte, so wird man sich in der Regel nicht damit begnügen dürfen, die Bakterien mikroskopisch zu untersuchen; man würde so weiter nichts feststellen können als ihre Form und ihr Verhalten zu Farblösungen und sonstigen Reagentien. Es würde vielmehr durchaus nothwendig werden, die Bakterien zur Vermehrung zu bringen, sie zu *züchten*, zu *cultiviren*. Erst die Cultur lässt bei vielen morphologisch gleichen oder sehr ähnlichen Arten Unterschiede der Arten hervortreten, und für die *Diagnosticirung* einer bestimmten Art ist die Cultur gewöhnlich gar nicht zu umgehen.

Es kann nun vorkommen, dass die Natur uns im gegebenen Falle die Bakterien bereits in *Reincultur* darbietet, d. h. dass sich an dem Fundorte nur einer einzigen Bakterienart angehörige Individuen, unvermischt mit Individuen anderer Arten, vorfinden. In diesem Falle würden wir nichts weiter zu thun haben, als beliebige Theile dieser natürlichen Reincultur auf einen passenden keimfreien, natürlichen oder künstlichen Nährboden zu übertragen; auf diesem Nährboden würde sich die eingesäete Art vermehren, und wir hätten dann durch beliebige Variation der Culturbedingungen Gelegenheit, das Verhalten der Art unter den verschiedensten Bedingungen, mithin ihre Eigenschaften nach allen Richtungen hin, zu studiren. Dieser Fall findet sich z. B. häufig dann, wenn es sich um Thierkrankheiten handelt, die durch die Einwanderung einer bestimmten Bakterienart in den Thierkörper und durch die Vermehrung dieser Art im Blute des Thieres

bedingt sind. Ein jeder Blutstropfen wird dann eine Reincultur der bestimmten Bakterienart enthalten.

In den meisten Fällen liegen jedoch die Dinge so, dass die Natur nicht eine Reincultur, sondern ein Gemisch verschiedener Bakterienarten darbietet. Wollen wir dann Genaueres über diese Arten erfahren, so müssen wir die Arten von einander zu trennen, die einzelnen Arten von einander isolirt in Reincultur zu gewinnen suchen. Ein methodisches, zielbewusstes Vorgehen in dieser Richtung ist erst durch Rob. Koch ermöglicht worden. Koch's Methoden der Reincultivirung der Bakterien sind derart construirt, dass wir jedesmal die verschiedenen Bakterienarten, die sich in einem bestimmten Bakteriengemische vorfinden, in isolirten Reinculturen zu gewinnen im Stande sind, falls nur diese Arten auf dem zur Anwendung gebrachten Nährboden und unter den sonstigen bestehenden Bedingungen überhaupt zu gedeihen vermögen.

Die Zeit vor Koch arbeitete fast ausschliesslich mit flüssigen Nährböden. Koch schuf den durchsichtigen, festen Nährboden. In dieser Umwandlung liegt die Basis der modernen Bakteriologie.

Ist die Aufgabe gestellt, mit Hülfe eines flüssigen Nährbodens die verschiedenen Arten, welche sich in einem Bakteriengemische vorfinden, von einander zu sondern, in isolirten Reinculturen zu gewinnen, so kann dies nur so geschehen, dass man aus dem Bakteriengemische eine einzelne Bakterienzelle herausnimmt und diese, unvermischt mit andern Zellen, in ein beliebiges Quantum des vorher keimfrei gemachten flüssigen Nährbodens überträgt. Hat man wirklich nur eine einzelne Zelle übertragen, ist der Nährboden sicher keimfrei gewesen, so muss jetzt, falls der Nährboden überhaupt passend ist, eine Reincultur gelingen. Aber wie überträgt man eine einzelne Zelle? Man hat dies durch weitgehende Verdünnungen des Bakteriengemisches mit sterilisirtem Wasser zu ermöglichen gesucht. Man ging mit der Verdünnung so weit, dass auf eine abmessbare Menge der Flüssigkeit der Schätzung nach nur ein einzelner Keim kam. Uebertrug man nun diese Menge der Flüssigkeit, so entstand mit Wahrscheinlichkeit eine Reincultur, da man mit Wahrscheinlichkeit nur einen einzelnen Keim übertragen hatte. Wie aber war eine Controle darüber möglich, dass wirklich nur ein einzelner Keim übertragen war, dass ihm nicht mechanisch andere anhingen? Wie war es möglich, die Entwickelung der Cultur aus dem einen Keime mikroskopisch zu verfolgen und es so über alle Zweifel zu erheben, dass man es wirklich mit einer Reincultur zu thun hatte? Alle diese Dinge

boten so unendliche Schwierigkeiten, dass an eine universelle Anwendbarkeit dieser Methode zum Zwecke der Reincultur nicht gedacht werden konnte. Lister war übrigens der Erste, welcher mit Hülfe der beschriebenen Verdünnungsmethode[1]) eine Bakterienreincultur erzielte, nachdem dieselbe vorher schon von Brefeld für Schimmelpilze mit Erfolg angewendet worden war.

R. Koch hatte bei seiner ersten, grundlegenden Arbeit über die Aetiologie des Milzbrandes[2]) ebenfalls nur flüssige Nährböden zur Verwendung. Es gelang ihm hier, mit Hülfe des flüssigen Nährbodens die Entwickelungsgeschichte des Milzbrandbacillus lückenlos darzulegen und an der Hand sicherer Reinculturen seine Pathogenität zu erweisen. Immerhin gehörte das ausserordentliche Geschick eines Koch dazu, die Unzulänglichkeiten des flüssigen Nährbodens zu überwinden und denselben in einwandsfreier Weise dem erstrebten Ziele dienstbar zu machen.

Der fundamentale Unterschied zwischen dem flüssigen und dem festen Nährboden ist der, dass der flüssige Nährboden die verschiedenen Bakterienvegetationen, die sich in oder auf ihm bilden, in uncontrolirbarer Weise durch einander gerathen lässt, während dieselben, in festem Nährboden wachsend, vermöge der Consistenz des letzteren an Ort und Stelle isolirt von einander fixirt bleiben. Ist nun der feste Nährboden nebenbei noch durchsichtig, so ist eine makroskopische und mikroskopische Controle der verschiedenen Vegetationen in jedem Augenblicke ermöglicht, und damit die Erzielung von Reinculturen eigentlich vollendet. Wir werden uns deshalb zur Isolirung der Bakterien stets des festen Nährbodens bedienen; flüssige Nährböden können nur in Frage kommen, wenn wir bereits Reinculturen vor uns haben.

Zur Isolirung der Bakterien, zur methodischen Herstellung von Reinculturen sind also feste, durchsichtige Nährböden erforderlich. Solche Nährböden erhält man nach Koch's Vorgang durch Zusatz von gelatinirenden Substanzen zu passenden Nährlösungen. Da die Bakterien je nach den Arten aber verschiedene Ansprüche an den Nährboden stellen, so wird man sich nicht auf eine einzige Nährlösung beschränken dürfen, sondern man muss die Zusammensetzung der Nährlösung je nach dem Bedürfnisse variiren.[3])

---

[1]) Ausführliches hierüber findet man in Hueppe's „Methoden der Bakterienforschung." 5. Aufl. Wiesbaden. 1891. p. 306 ff.

[2]) Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 277 ff.

[3]) Eine Methode, die Bedürfnisse an Nährsubstanzen für einen gegebenen Fall zu ermitteln, hat Beyerinck 1889 (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 347)

Koch[1]) construirte sich so verschiedene „Nährgelatinen" durch Zusatz von Gelatine zu Heuinfus, Weizeninfus, Humor aqueus, Fleischextract- und Peptonlösung, Fleischinfus und Peptonlösung, Blutserum.

Zur Cultivirung von Pilzen sehr geeignet erwiesen sich mit Pflaumendecoct oder Pferdemistdecoct hergestellte Nährgelatinen.

Zur Züchtung von pathogenen Organismen ganz besonders geeignet fanden Koch und Loeffler[2]) eine Nährlösung, welche aus Fleischinfus mit Pepton- und Kochsalzzusatz besteht, und die durch Natriumphosphat oder Natriumcarbonat schwach alkalisch gemacht wird. Diese Pepton-Kochsalz-Bouillon bildet die Basis der wichtigsten Nährböden, welche in dem bakteriologischen Laboratorium heutzutage angewendet werden. In Verbindung mit Gelatine bildet sie den gewöhnlich einfach als „Koch'sche Nährgelatine" bezeichneten Nährboden; in Verbindung mit Agar bildet sie das weiterhin noch zu besprechende „Nähragar"; ohne Zusatz wird sie als „Nährbouillon" angewendet.

2. Die Darstellung der wichtigsten bakteriologischen Nährböden. Nährgelatine, Nähragar, Nährbouillon, Blutserum, Kartoffel, Ei, Brotbrei.

Die „Nährgelatine" wird folgendermassen dargestellt: Man übergiesst

500 g fettfreies gehacktes oder geschabtes Rindfleisch

mit

1 l destillirtem Wasser

und lässt das Gemisch, nachdem man das Fleisch möglichst gleichmässig in dem Wasser vertheilt und hinterher noch mehrmals umgerührt hat, 12—24 Stunden an einem kühlen Orte stehen. Im

---

angegeben. Er vertheilt eine Reincultur der Bakterien- (oder Hefen- etc.) Art, deren Bedürfnisse ermittelt werden sollen, in geschmolzener Gelatine oder in Agar, denen die nothwendigen Nährsubstanzen zunächst noch nicht zugesetzt sind, giesst die so beschickte Gelatine resp. das Agar auf eine Platte etc. aus, lässt das Ausgegossene erstarren und bringt nun auf die Oberfläche der erstarrten Gelatine resp. des Agars an verschiedenen Stellen Tröpfchen von Lösungen verschiedener einzelner Nährsubstanzen. Die Stoffe diffundiren in die erstarrte Gelatine etc. hinein, und es kommt dort zu dem ausgiebigsten Wachsthum, wo (wie z. B. event. in dem gemeinsamen Diffusionsfeld differenter Tröpfchen) die Nährsubstanzen in der günstigsten Zusammensetzung vorhanden sind. Es entsteht auf diese Weise eine Entwickelungsfigur auf der Platte, welche Beyerinck „Auxanogramm" nennt; die Methode bezeichnet er als „Auxanographie".

[1]) Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27, 28.

[2]) Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27 und 169.

Sommer empfiehlt sich hierzu der Eisschrank. Dann giesst man das Gemisch auf ein reines leinenes Tuch, welches über einen grossen Glastrichter hinweggelegt ist, und lässt das „Fleischwasser“ hindurchlaufen. Ist die ganze Menge aufgegossen, so kann man die Zipfel des Tuches zusammennehmen und nun durch vorsichtiges Drücken und Pressen des Tuches mit der Hand das Durchfliessen der Flüssigkeit beschleunigen. Man presst so lange, bis man 1 l Fleischwasser erhalten hat. Das Fleischwasser ist eine Lösung der löslichen Substanzen des Muskels; es reagirt in Folge seines Gehaltes an Milchsäure stark sauer.

In dieses Fleischwasser hinein wird nun gegeben:

100 g Gelatine (10 %),
10 g Pepton (Peptonum siccum) (1 %),
5 g Kochsalz (1/2 %).

Es giebt im Handel viele verschiedene Sorten von Gelatine. Wir verwenden für unsere Zwecke die gute weisse Speisegelatine der Küche, die eine gute Erstarrungsfähigkeit besitzt.

Das Gemisch lässt man zunächst etwas stehen, damit die Gelatine aufquillt, und bringt dasselbe dann bei mässiger Erwärmung (durch Einstellen in warmes Wasser) zur Lösung. Die Erwärmung soll hierbei niemals so weit gehen, dass das Muskeleiweiss beginnt ausgefällt zu werden.

Ist die ganze Menge der Gelatine und des Peptons gelöst, so nimmt man das Neutralisiren des Gemisches vor. Man bedient sich dazu einer concentrirten wässerigen Lösung von Natriumcarbonat, die, zuerst in grösserer Quantität, dann vorsichtiger, tropfenweise, mit Hülfe einer Pipette so lange zugesetzt wird, bis das Lackmuspapier schwache, aber deutliche alkalische Reaction anzeigt.[1])

Dann kommt das, am zweckmässigsten in einem grossen Glaskolben befindliche, Gemisch (dem man — behufs der sichereren Klärung bei dem nachfolgenden Erhitzen — jetzt noch das Weisse eines [guten, frischen!] Hühnereies zusetzen kann, welches mit der Flüssigkeit gehörig durchgeschüttelt wird) in das kochende Wasserbad oder in den Dampftopf (cf. oben p. 27), wo es 1 bis 2 Stunden der Erhitzung durch den 100° C. heissen Wasserdampf ausgesetzt wird. Hierbei werden die aus dem Muskel stammenden (event. auch das zugesetzte Hühnereiweiss repräsentirenden) fällbaren Eiweisskörper aus dem

---

[1]) N. K. Schultz (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 54) empfiehlt zur Richtigstellung der Reaction die Titrirmethode unter Anwendung des Phenolphthaleïn als Indicator.

Gemische ausgefällt; sie finden sich dann an den Wänden des Gefässes und auf der Oberfläche der Flüssigkeit schwimmend als zusammenhängende Massen vor, während die Flüssigkeit selbst klar erscheint.

Die letztere braucht nun nur noch filtrirt zu werden. Das Filtriren geschieht durch eine doppelte Lage gutes Filtrirpapier hindurch. Man lässt die Flüssigkeit in gut gereinigte sogenannte Erlenmeyer'sche Kölbchen hineinlaufen. Die Gelatine ist jetzt eventuell (siehe nachher) fertig. Sie muss glasklar erscheinen und sich beim Aufkochen nicht trüben; sie muss schwach, aber deutlich alkalisch reagiren.

Nur in seltenen Fällen wird, wenn man die Gelatine genau nach dem vorstehenden Recept angefertigt hat, die chemische Reaction jetzt schon eine zufriedenstellende sein. Hat man nämlich nach der Lösung der Gelatinetafeln und des Peptons in dem Fleischwasser die Reaction des Gemisches auch auf das Sorgfältigste richtig gestellt, so erlebt man es doch ausserordentlich häufig, dass nach dem Kochen die Reaction wieder eine neutrale oder selbst leicht saure geworden ist. Dieses „Nachsäuern" der Nährgelatine beim Kochen scheint bei der einen Gelatinesorte in höherem, bei der anderen in geringerem Grade aufzutreten. Auf jeden Fall darf man sich daher niemals damit zufrieden geben, dass man die Reaction ein Mal richtig gestellt hat, sondern es ist durchaus nothwendig, die Reaction nach dem Kochen wiederum zu prüfen. Am zweckmässigsten ist es, diese Prüfung und event. erneute Richtigstellung vor dem Filtriren vorzunehmen. Nach der Richtigstellung der Reaction wäre dann erneut kurze Zeit ($^1/_2$ Stunde etwa) zu kochen, dann zu filtriren.

Dass die Nährgelatine die richtige, d. h. eine deutlich alkalische Reaction zeigt, ist ein ganz hervorragend wichtiger Punkt; und man darf denselben bei der Darstellung dieses Nährbodens nie aus den Augen lassen. Die Bakterien verlangen ganz im Allgemeinen, wie das schon oben (p. 21) gesagt wurde, alkalische Nährböden. Manche Arten, speciell z. B. der Cholerabacillus, sind ganz ausserordentlich empfindlich in dieser Beziehung. Falls man daher eine Nährgelatine dargestellt hat, die die vorschriftsmässige Reaction nicht zeigt, so darf man sich nachher nicht wundern, wenn der Cholerabacillus nur höchst kümmerlich oder auch gar nicht auf diesem Nährboden gedeiht, der letztere demnach für Cholerauntersuchungen nicht zu brauchen ist.

Bezüglich der Bereitung der Nährgelatine ist aber darauf aufmerksam zu machen, dass es sich nicht empfiehlt, die chemische Reaction gleich im Anfange (vor dem Ausfällen der Eiweisskörper) zu

stark alkalisch zu stellen. Man bewirkt dadurch nämlich, dass der nachfolgende Klärungsprocess (beim Kochen) sehr unvollkommen und schlecht vor sich geht. Je weniger alkalisch die Fleischwasser-Gelatine-Pepton-Kochsalz-Lösung ist, desto schneller und besser klärt sie sich beim Kochen. Im Allgemeinen würde es sich also empfehlen, in dieser Beziehung eine Mittelstrasse einzuschlagen; h. h. man macht zunächst (vor dem Kochen und Klären) die Flüssigkeit nur neutral resp. ganz schwach alkalisch, dann kocht man, und erst nach dem Kochen und der Klärung wird die Reaction deutlich alkalisch eingestellt. Erneutes kurzes Kochen (siehe oben) und darauf folgendes Filtriren würde dann die Operation abschliessen.

Genügt die Gelatine den in Vorstehendem ausführlich auseinander gesetzten Anforderungen (erscheint sie nach dem Filtriren glasklar durchsichtig, trübt sie sich beim Aufkochen nicht, zeigt sie die richtige Reaction), so kann sie in Reagenzgläschen eingefüllt werden, in welchen sie dann vorläufig, bis wir sie in Gebrauch nehmen, verbleibt. Nach der Koch'schen Vorschrift werden die zu benutzenden Reagenzgläschen zunächst sauber mit Wasser und Bürste gereinigt, dann an der Luft getrocknet und nun mit je einem Wattepfropf[1]), der in die Oeffnung fest eingedreht wird, und durch den ein „pilzdichter" Verschluss des Gläschens herbeigeführt werden soll, versehen. Die Gläschen gelangen dann in einen in den Heissluft- oder Trockenschrank (cf. p. 26) passenden Einsatz von Drahtgeflecht („Drahtkorb"), welcher in den Trockenschrank gestellt wird. Hier werden die Gläschen $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden einer Temperatur von etwa 150 ° C. ausgesetzt. Sie werden hierbei sammt dem Wattepfropf, der bei dieser Procedur eine leicht bräunliche Färbung (beginnende Verkohlung) annimmt, gründlich sterilisirt.[2])

---

[1]) Auf die Herstellung des Wattepfropfs hat man gehörige Sorgfalt zu verwenden. Es genügt nicht, irgendwie ein Stückchen Watte in den Hals des Röhrchens zu stopfen, sondern man muss dazu ein zusammenhängendes Stück Watte nehmen; die äussere Fläche des fertigen Wattepfropfs muss (an den Seiten und unten) eine möglichst continuirliche Schicht bilden.

[2]) Nach dem Vorgange mehrerer anderer Autoren habe ich das Sterilisiren der Reagenzgläser vor dem Einfüllen der Gelatine seit Jahren ganz weggelassen. Ich stelle mir die gut gereinigten und getrockneten Gläschen neben einander auf das Reagenzglasgestell, fülle sie nach der Reihe mit Gelatine, versehe erst jetzt jedes einzelne mit einem (unsterilisirten) Wattepfropf und lasse dann die Sterilisation im Dampf (siehe oben) folgen. Ich habe hierbei niemals einen Misserfolg gesehen. Ebenso verfahre ich bei der Agarbereitung und bei der Bouillonbereitung, ebenso auch, wenn es sich um Kartoffelculturen im Reagenzglase handelt. Für Blutserumröhrchen ist dieses abgekürzte Verfahren natürlich nicht anwendbar; denn Blutserum kann nicht im Dampf sterilisirt werden.

Nach der Erhitzung lässt man die Gläschen erkalten. Sie sind nun gebrauchsfertig. Man nimmt Gläschen für Gläschen in die Hand, entfernt den Wattepfropf, dessen innerhalb des Röhrchens befindlich gewesenen Theil man sorgfältig vor Berührung mit den Händen und anderen Dingen schützt, und giesst aus dem Erlenmeyer'schen Kölbchen die flüssige Gelatine in einer Menge von je etwa 10 ccm in das vertikal gehaltene Reagenzröhrchen so, dass eine Benetzung des oberen Theiles der Wand des Röhrchens sorgfältig vermieden wird. Verfehlt man dies, so klebt nachher der Wattepfropf an der Wand an und muss dann später losgerissen werden, was immer Unannehmlichkeiten mit sich führt. Nach dem Eingiessen der Gelatine wird der Pfropf wieder aufgesetzt resp. eingedreht, und das Gläschen dann zunächst in das Reagenzglasgestell bei Seite gestellt.

Sind alle Gläschen mit Gelatine beschickt, so kommen sie zusammen in den Einsatz des Dampftopfes und mit diesem für 15—20 Minuten in den Dampf von 100° C. Dann werden sie aus dem Dampftopf entfernt, zur Abkühlung hingestellt, bis zum nächsten Tage stehen gelassen, und gelangen nun von Neuem auf 15—20 Minuten in den Dampftopf. Dies wird dann auch noch ein drittes Mal, 24 Stunden später, wiederholt. Bei dieser Behandlung wird die Gelatine sterilisirt. Der Grund dieser mehrmaligen, unterbrochenen, „discontinuirlichen" Erhitzung ist folgender: In der Gelatine sind zunächst Keime vorhanden, welche zerstört werden sollen. Die Keime können z. Th. in Form vegetativer Zellen, z. Th. in Form von Dauersporen vorhanden sein. Die ersteren sind durch Erhitzung schnell und leicht zu tödten, die letzteren aber würden zu ihrer Tödtung eines viele Stunden fortgesetzten Kochens benöthigen. Eine so lange auf Siedetemperatur gehende Erhitzung verträgt aber die Gelatine nicht. Die Gelatine hat die Eigenthümlichkeit, durch langdauerndes Erhitzen ihre Erstarrungsfähigkeit mehr und mehr einzubüssen. Wir würden also, wollten wir die Gelatine durch einmaliges Kochen sicher sterilisiren, einen flüssigen Nährboden, und nicht einen festen, den wir haben wollen, erzielen. Man begnügt sich daher zunächst damit, die vegetativen Formen abzutödten. Bis zum nächsten Tage sind dann in der wieder abgekühlten Gelatine die etwa vorhandenen Sporen ausgekeimt, und es sind also jetzt keine Sporen mehr da, sondern nur vegetative Formen, die durch erneutes kurzes Erhitzen wieder leicht und sicher zu tödten sind. Um ganz sicher zu gehen, erhitzt man auch noch ein drittes Mal in dieser Weise. Dann hat man sicher keimfreie Gelatine.[1])

[1]) Unter Umständen können — allerdings sind das sehr seltene Aus-

Das Princip dieser „discontinuirlichen Sterilisation“ wurde von Tyndall erfunden.

Die Darstellung des Nähr-Agar erfordert ein etwas abweichendes Vorgehen. Das Agar oder Agar-Agar ist eine Pflanzengallerte, von verschiedenen Arten ostindischer Meerestange stammend. Das Agar kommt in Form von Streifen oder von Pulver oder auch von grösseren vierkantigen Stücken, die aus lose zusammenhängender dünner Agarmasse bestehen, in den Handel. Das Agar quillt in Wasser auf, schmilzt aber im Gegensatz zur Gelatine, welche bereits zwischen 25° und 30° C. flüssig wird, erst bei Temperaturen, die der des kochenden Wassers nahe kommen. Die geschmolzene Agarlösung erstarrt dann bei etwa 40° C. wieder. Zur Darstellung des Nähr-Agar geht man wieder von dem Fleischwasser aus, welches man sich in derselben Weise, wie oben (p. 111) bei der Bereitung der Nährgelatine angegeben, darstellt. Man setzt dann zu 1 l Fleischwasser 10 g Pepton (1%) und 5 g Kochsalz (½%).

Diese Mischung bringt man nun zunächst, ohne sie vorher zu neutralisiren, etwa für eine Stunde in den Dampftopf; hier werden die fällbaren Eiweisskörper ausgefällt. Man filtrirt die Flüssigkeit dann durch Filtrirpapier. Zu der Flüssigkeit, welche nun frei ist von durch Hitze ausfällbaren Eiweisskörpern, setzt man 10 bis höchstens 20 g Agar (1 bis höchstens 2%)[1]) entweder in Pulverform oder in kleinen Stückchen, die man durch Zerschneiden der Streifen etc. gewonnen hat, und bringt nun das Gemisch auf's Neue in den Dampftopf oder auch über die offene Flamme, bis sämmtliches Agar geschmolzen ist. Die homogene Flüssigkeit wird nun mit Hülfe von concentrirter Sodalösung (wie dies [oben p. 112] bei der Gelatine geschah) auf leicht alkalische Reaction gebracht. Dann wird noch einmal gründlich gekocht, am besten mehrere Stunden lang, und dann wird die Masse durch eine doppelte Lage Filtrirpapier, oder, was sehr zweckmässig ist, durch Flanell filtrirt. Hierzu wird man sich stets des Heisswassertrichters[2]) bedienen müssen. Man

---

nahmen — an den Gelatinetafeln des Handels äusserst widerstandsfähige Keime vorhanden sein, welche es verursachen, dass eine sichere Sterilisirung der Nährgelatine nach der geschilderten Methode nicht gelingt. (cf. Heim, Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 20).

[1]) Gewöhnlich nimmt man 1½%.

[2]) Unna (Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. No. 23) hat einen „Dampftrichter“ zum Agarfiltriren construirt. Derselbe arbeitet bei Temperaturen etwas über 100° C.; die Agarlösung ist während des Filtrirens dauernd von Dampf umgeben. Man kommt mit dem vierten Theil der Zeit aus, die man sonst zum Agarfiltriren braucht.

kann auch die Filtration ganz und gar im Dampftopf geschehen lassen. Das Agarfiltriren ist aber ein mühsames Geschäft, da die Agarmasse sehr langsam durch das Filter läuft; und man hat sich deshalb auf andere Weise möglichst klare Agarlösungen zu verschaffen gesucht.[1])

Vielfach angewendet wird ein einfaches Verfahren[2]), welches darauf beruht, dass man die Agarlösung in ein hohes Cylindergefäss giesst und dies so disponirt, dass sich die Lösung nur ganz allmählich abkühlen kann. Recht gut erreicht man dies, wenn man die aus dem Dampftopf kommende 100° C. heisse Agarlösung, nachdem man sie in ein derartiges Gefäss gebracht hat, mit demselben in den Dampftopf zurückstellt, den man nun, ohne ihn weiter zu heizen, der allmählichen Abkühlung überlässt. Es senken sich dann in der Lösung die in ihr suspendirten Praecipitate zu Boden, während die darüber befindliche Lösung mehr und mehr klar wird. Man findet dann nach dem Erstarren eine feste Agarmasse, die in ihren unteren Theilen die Praecipitate einschliesst, während die oberen klar sind. Die Masse wird nun, eventuell durch leichtes Erwärmen des Glases, aus dem letzteren im Ganzen herausgeholt; die trüben Theile des Agarcylinders werden durch einen Messerschnitt von den klaren getrennt, die letzteren zerkleinert, wieder geschmolzen, und dann der so gewonnene fertige Nährboden in einzelne Reagenzgläschen, wie dies bei der Gelatinebereitung geschah, eingefüllt. Darauf erfolgt das Sterilisiren der gefüllten Reagenzgläschen, welches man zweckmässig genau wie das der Gelatineröhrchen, d. h. durch je 15—20 Minuten lange Behandlung im Dampftopf an drei auf einander folgenden Tagen bewerkstelligt.

Für manche Zwecke ausgezeichnet ist ein Zusatz von etwa 6% Glycerin zu dem Nähragar. Einzelne pathogene Bakterienarten, z. B. Diphtheriebacillen, Streptococcen, gedeihen besser auf dem glycerinhaltigen Nährboden als auf dem glycerinfreien; und die Tuberkelbacillen wachsen sogar auf dem glycerinhaltigen Agar (gewöhnlich einfach „Glycerin-Agar“ genannt) ausgezeichnet, während sie auf

---

[1]) Tischutkin (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 9. 1891. p. 208) hat empfohlen, das Agar (vor der Lösung) in dünner (5 proc.) Essigsäure einzuweichen, dann in Wasser zu waschen und darauf erst in die Bouillon behufs der Auflösung zu bringen. Die Lösung geht dann schnell vor sich, und auch die Filtration des so hergestellten Nährbodens geschieht schnell und leicht. Wie jedoch N. K. Schultz (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 58) hervorhebt, gewinnt man durch diese Methode nichts. Das Erstarrungsvermögen des Agar wird nämlich durch die Einwirkung der Säure herabgesetzt und kann auch durch nachträgliches Neutralisiren nicht wieder hergestellt werden.

[2]) cf. Flügge, Die Mikroorganismen. 2. Aufl. 1886. p. 650.

gewöhnlichem Agar nur äusserst kümmerlich wachsen. Das Glycerin setzt man bei der Agarbereitung der filtrirten Bouillon (zusammen mit dem Agar selbst) zu; im Uebrigen verfährt man dann, wie oben angegeben.

Ferner ist für manche Zwecke (z. B. zur Cultivirung von Anaëroben (siehe weiter unten], zur Züchtung von Hefen etc.) ein Zusatz von etwa 2 % Traubenzucker zu dem Nähragar sehr zu empfehlen („Traubenzucker-Agar“).

Das Nähragar unterscheidet sich in mehreren Beziehungen sehr wesentlich von der Nährgelatine. Während die Nährgelatine schon bei Temperaturen wenig über 25° C. flüssig wird, zu Züchtungen bei Brüttemperatur also nicht gebraucht werden kann, eignet sich das Nähragar für diese Züchtungen ganz vortrefflich. Ein zweiter wesentlicher Unterschied ist der, dass das Agar kein Eiweisskörper wie die Gelatine, sondern ein den Kohlehydraten nahestehender Körper ist. Das Agar ist also nicht peptonisirbar wie die Gelatine; es wird durch Bakterien, welche die Gelatine verflüssigen (cf. oben p. 38). nicht verflüssigt.

Die Reagenzgläschen lässt man nach vollendeter Sterilisirung entweder in vertikaler Stellung abkühlen, oder aber, und dies empfiehlt sich besonders bei den Agar-Röhrchen, man lässt dieselben in schräger Lage abkühlen, so dass der Nährboden mit einer Oberfläche erstarrt. die mit der Längsachse des Gläschens einen sehr spitzen Winkel bildet. Man hat dann eine möglichst ausgedehnte Oberfläche des Nährbodens für Oberflächenimpfungen zur Verfügung. Beim Erstarren presst das Nähragar Wasser aus („Condensationswasser“), welches sich später in den abhängigen Theilen des Röhrchens ansammelt.

Die Nährbouillon wird in der Weise dargestellt, dass man zu 1 l Fleischwasser, welches, wie oben (p. 112) angegeben, dargestellt ist, 10 g Pepton (1 %) und 5 g Kochsalz (½ %) zusetzt und nach der Auflösung dieser Zusätze die Reaction des Gemisches mit concentrirter Natriumcarbonatlösung schwach alkalisch macht. Hierauf wird (event. nach Zusatz des Weissen eines Hühnereies) 1 bis 2 Stunden im Dampftopf gekocht, filtrirt, die fertige Bouillon dann in einzelne Reagenzgläschen zu je etwa 10 ccm eingefüllt. Die Gläschen werden darauf, genau wie dies bei Gelatine und bei Agar geschah, sterilisirt.

Zum Zwecke der Bereitung des Blutserums als Nährboden für Mikroorganismen verfährt man am besten so, dass man das Blut aus den Adern des Thieres direct in grössere sterile Gefässe (sterilisirte Glascylinder) strömen lässt. Es gelingt dann häufig, das Blut ganz

keimfrei aufzufangen.[1]) Man lässt nun das Blut an einem kühlen Orte stehen. Nachdem sich dann das Serum von dem Blutkuchen getrennt hat, wird das Serum mit sterilisirter Pipette abgehoben und in Reagenzgläschen (zu je etwa 10 ccm) eingefüllt, die vorher sammt dem Wattepfropf gut sterilisirt wurden (cf. p. 114). Darauf werden die gefüllten Gläschen in einen doppelwandigen Kasten von Zinkblech gelegt, dessen Boden nicht horizontal, sondern etwas gegen die Horizontale geneigt ist, und in welchem der Zwischenraum zwischen den beiden Wandungen durch Wasser ausgefüllt ist. Die Gläschen liegen hier so, dass das Blutserum mit seiner Oberfläche einen sehr spitzen Winkel mit der Längsachse des Gläschens bildet. In dieser Lage wird nun das Blutserum zur Erstarrung gebracht, und zwar geschieht dies bei einer Temperatur von 65—68° C., die man durch Erhitzung des Wassers von der Bodenfläche des Kastens her erreicht. Bei dieser Temperatur erstarrt, wie Koch fand, das (Rinder-) Blutserum zu einer durchsichtigen homogenen Masse. Geht man mit der Temperatur höher, über 70° C., so kommt keine klare, durchsichtige, sondern eine trübe Masse zu Stande. Die fertigen Gläschen werden nun auf ihre Sterilität dadurch geprüft, dass man sie mehrere Tage bei Brüttemperatur stehen lässt. Zeigen sie dann keine Entwickelung von Bakteriencolonien, so sind sie steril und gebrauchsfähig. Man gebraucht diese Blutserumröhrchen zu Oberflächenimpfungen. Aus diesem Grunde liess man sie auch in schräger Lage erstarren; das Blutserum bietet so eine möglichst grosse Oberfläche dar. — Für manche Zwecke, besonders zur Anlegung sogenannter Blutserumplatten (siehe den nächsten Abschnitt), ist es nothwendig, das Blutserum nicht in erstarrtem, sondern in flüssigem Zustande aufzubewahren. Die mit dem Serum beschickten Röhrchen werden zu diesem Zwecke, ohne dass man sie vorher der Erstarrungstemperatur aussetzt, behufs Prüfung der Sterilität in den Brütschrank gestellt. Haben sie die Probe bestanden, so sind sie zu jederzeitigem Gebrauche fertig vorbereitet.

Auch das Blutserum wird unter Umständen mit Zusätzen versehen, z. B. Glycerin. Koch empfahl auch eine Blutserum-Gelatine zu Culturzwecken.

Hat man keine Sicherheit, dass das Blutserum bei der Entnahme aus dem Thierkörper steril aufgefangen wurde, so muss man es, nachdem es zur Erstarrung gebracht wurde, oder auch vorher, besonders sterilisiren. Dies geschieht, indem man die Röhrchen 6 bis 8 Tage lang täglich ein bis zwei Stunden einer Temperatur von etwa

---

[1]) R. Koch. Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 47.

56° C. aussetzt. Es findet hier nach demselben Principe, welches wir bei der Gelatine, bei Agar und Bouillon angewendet haben, eine Sterilisirung statt.

In seltenen Fällen wird menschliches Blutserum als Nährboden nothwendig. Nach Bumm's Vorgang gewinnt man dasselbe zweckmässig aus Placenten.[1])

Die bis jetzt besprochenen Nährböden haben wir nach der Bereitung in Reagenzgläschen eingefüllt und können sie nun aufbewahren, bis wir sie benutzen wollen. Der Wattepfropf verhindert das Hineingelangen von Bakterien- und sonstigen Keimen in den steril gemachten Nährboden, und der letztere bleibt uns also dauernd zur Verfügung — bis er durch Austrocknen, was ganz allmählich erfolgt, unbrauchbar wird.

In ähnlicher Weise kann man sich nun auch die (für Züchtung von Bakterien zuerst von Schröter[2]) angegebene) Kartoffel als Nährboden für bakteriologische Zwecke vorräthig halten. Wir werden die hierzu angegebenen Methoden noch besprechen.

Nach der ursprünglichen Methode von Koch macht man die Kartoffel immer erst kurz vor dem Gebrauche zurecht. Man verfährt hierbei so, dass man die Kartoffel[3]) unter dem Strahle der Wasserleitung mit einer harten Bürste, sog. Kartoffelbürste, zunächst mechanisch von allem äusserlich anhaftenden Schmutz, von Erdpartikelchen u. s. w. gründlich befreit. Die Kartoffel stammt aus der Erde, und in der Erde sind, wie wir bereits früher (p. 27) mitgetheilt haben, Bakterienkeime von ganz ausserordentlich grosser Resistenz vorhanden. Diese müssen also zunächst möglichst beseitigt werden.

Die so mit der Bürste gereinigte Kartoffel wird dann einer genaueren Inspection unterzogen; und es werden hierbei mit Hülfe eines gewöhnlichen, in der Küche gebräuchlichen Kartoffelschälmessers („Kartoffelmesser") die Vertiefungen der Kartoffeloberfläche, die „Augen" der Kartoffel, sowie alle etwa schadhaft erscheinenden Theile der Oberfläche ausgekratzt. Man benutzt hierbei die Spitze des Messers, welches man mit seiner Ebene senkrecht zur Kartoffeloberfläche auf die letztere aufsetzt. Wir müssen hierbei soviel der Augen resp. der

---

1) Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 910.

2) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 1. 1872.

3) Nicht alle Kartoffelsorten sind für Culturzwecke gut zu verwenden. Man wählt am besten sogenannte „Salatkartoffeln", die beim Kochen nicht platzen und, in gekochtem Zustande durchschnitten, keine „mehlige", sondern eine feste, glänzende Schnittfläche zeigen.

schadhaften Stellen entfernen, dass von der Kartoffel nur gesundes Gewebe und gesunde Epidermis zurückbleibt. Erstrecken sich grössere krankhafte Stellen in die Kartoffel hinein, so ist die Kartoffel zu verwerfen. Man hüte sich, zu tief in die Kartoffel hinein zu schneiden, weil die Kartoffel hinterher in Sublimatlösung gelegt wird, und eindringendes Sublimat die Kartoffel für Nährzwecke ungeeignet macht. Auch schone man die gesunde Epidermis möglichst.

Ist die Kartoffel mit dem Messer gesäubert, so gelangt sie auf $^1/_2$ bis 1 Stunde in eine $^1/_{10}$ procentige Säuresublimatlösung (1 Sublimat, 5 Salzsäure, 1000 Wasser)[1] (cf. oben pag. 32). Dann wird die Kartoffel aus der Sublimatlösung herausgenommen und, nachdem sie in den Einsatz des Dampftopfes gelegt worden ist, mit demselben auf $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden in den Dampftopf gebracht. Hier wird die Kartoffel gar gekocht und zugleich endgültig sterilisirt.

Nun wird der Einsatz aus dem Dampftopf herausgenommen und zunächst zur Abkühlung hingestellt. Ist die Abkühlung einigermassen erfolgt, so werden die einzelnen Kartoffeln mit 2 oder 3 Fingern der mit Seife gut gewaschenen und dann in Sublimatlösung getauchten linken Hand aus dem Einsatz herausgenommen und mit Hülfe eines in der rechten Hand gehaltenen, zunächst „ausgeglühten" (cf. p. 25) und darauf wieder erkalteten Kartoffelmessers durchschnitten, um dann sofort in eine (noch zu beschreibende) feuchte Kammer gelegt zu werden. Bei dem Herausnehmen der Kartoffeln mit Hülfe der „Sublimatfinger" aus dem Einsatz des Dampftopfes hat man zunächst darauf zu sehen, dass die Kartoffeln nicht mehr als nöthig mit Sublimatlösung beträufelt werden. Dann ist zu beachten, an welchen Stellen die Kartoffel ergriffen werden soll. Wir wollen die Kartoffel nachher durchschneiden, und die hierbei entstehenden Schnitthälften sollen sich gut so hinlegen lassen, dass die Schnittflächen nach oben sehen. Die Kartoffel muss also, wenn wir auf ihre gewöhnlich ellipsoide Gestalt die für die Erde gebräuchlichen Bezeichnungen anwen-

[1]) Zweckmässig hält man sich als Stammflüssigkeit eine mit Salzsäure hergestellte 20 procentige Sublimatlösung (20 g Sublimat, 100 ccm Salzsäure) vorräthig. Von dieser Stammflüssigkeit nimmt man 5 ccm und füllt dieselben mit Leitungswasser bis zu 1 l auf: So erhält man die $^1/_{10}$ procentige Lösung für den Gebrauch. — Zur Prüfung darauf, ob eine Sublimatlösung genügende Quantitäten Sublimat gelöst enthält, bedient man sich nach R. Koch (Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 278) sehr bequem der Kupfer-Reaction. Ein mit Schmirgelpapier blank geputztes Streifchen Kupferblech wird in die zu prüfende Lösung hineingebracht. Bildet sich innerhalb einer halben Stunde ein deutlicher Quecksilberüberzug, so enthält die Lösung mindestens 1 : 5000 Sublimat. Eine $^1/_{10}$ procentige Lösung giebt die Reaction schon innerhalb einer Minute deutlich.

den, äquatorial durchschnitten, also an den Polen mit den Fingern angefasst werden.

Die durchschnittene Kartoffel wird nun mit der linken Hand in die feuchte Kammer so gelegt, dass die beiden Schnitthälften von einander getrennt und die Schnittflächen nach oben gerichtet sind. Die feuchte Kammer besteht aus einem Paar geräumiger Glasschalen (Doppelschale), deren obere über die untere hinübergreift und als kappenartiger Deckel dient. Die untere hat c. 20 cm lichten Durchmesser und etwa 6 cm Höhe. Der Boden der inneren, unteren Schale ist mit einem kreisförmigen Stück Fliesspapier bedeckt, welches mit $^1/_{10}$ proc. Sublimatlösung befeuchtet ist. Nach dem Einlegen der Kartoffeln wird die Deckelschale aufgelegt; man lässt dann die Kartoffeln gründlich abkühlen und kann sie dann in der weiterhin zu besprechenden Weise impfen.

Will man gekochte Kartoffeln zu Culturzwecken vorräthig halten, so kann man nach v. Esmarch[1]) so verfahren, dass man die rohen Kartoffeln schält, abspült, in Scheiben schneidet und diese Scheiben in kleine gläserne Doppelschälchen (von 5 bis 6 cm Durchmesser) legt, die zuvor im Trockenschrank sterilisirt[2]) sind. Die so armirten Schälchen werden auf etwa $^3/_4$ Stunden in den Dampftopf gestellt, dann herausgenommen und bis zur späteren Benutzung aufbewahrt.

Andere Methoden bereiten die Kartoffel innerhalb des mit Wattepfropf verschlossenen Reagenzglases zur Cultur vor. Auf solchen Kartoffeln angelegte Culturen sind vor Verunreinigungen durch fremde Keime ganz sicher geschützt, während dies nicht von Kartoffelculturen gilt, die nach den zuerst besprochenen Methoden angestellt werden. Methoden der Kartoffelcultur im Reagenzglase haben Bolton[3]), Globig[4]), Roux[5]) angegeben. Globig und Roux verwenden Kartoffelkeile, welche durch diagonale Durchschneidung von Kartoffelcylindern hergestellt werden, die man mit dem Korkbohrer aus der Kartoffel aussticht. Globig verwendet bereits gekochte, Roux rohe Kartoffeln. In beiden Fällen gelangen die Kartoffelkeile dann, mit

---

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 1.

2) Diese vorherige Sterilisirung der Doppelschälchen im Trockenschrank ist nicht dringend nothwendig; es empfiehlt sich aber, falls man nicht sterilisirte Schälchen verwendet, die mit den Kartoffeln beschickten Schälchen an drei auf einanderfolgenden Tagen im Dampftopf zu erhitzen, und zwar am ersten Tage c. $^1/_2$ Stunde, an den beiden folgenden Tagen je 15 Minuten.

3) Med. News. 1887. vol. 1. No. 12.

4) Zeitschr. für Hygiene. Bd. 3. 1887. p. 298.

5) Annales de l'inst. Pasteur. 1888. No. 1.

dem breiten Ende voran, in ein Reagenzglas, welches durch einen Wattepfropf verschlossen wird. Da sich bei dem nachfolgenden Kochen resp. Sterilisiren Condensationswasser bildet, so lässt Roux die Kartoffel auf einer in der Nähe des Bodens des Reagenzglases befindlichen verengerten (eingezogenen) Stelle der Wand des Glases aufruhen, während Hueppe[1]) hierzu ein Stück Watte benutzt, welches auf den Boden des (in gewöhnlicher Weise geformten) Reagenzglases gebracht wird. Durch beide Vorrichtungen wird die Berührung der Kartoffel mit dem Condensationswasser verhindert. Ich[2]) benutze zu diesem Zwecke kleine, kurze Glasröhrchen, auf denen der Kartoffelkeil seinen Stützpunkt findet. Hat man bereits gekochte Kartoffeln für die genannte Methode in Verwendung gebracht, so folgt nach dem Verschluss des Glases mit Watte die Sterilisirung, welche wie bei der Gelatine- etc. Bereitung vorgenommen wird. Hat man rohe Kartoffeln verwendet, so müssen die Kartoffelkeile erst gekocht, dann noch gründlich sterilisirt werden. Zu dem Zwecke stellt man die Gläschen zunächst für 30 Minuten in den Dampftopf und wiederholt die Dampfbehandlung an den beiden nächstfolgenden Tagen je 15—20 Minuten lang.

Die Kartoffel hat gewöhnlich eine leicht saure Reaction. Für gewisse Zwecke ist es nothwendig, die Kartoffeloberfläche (durch Sodalösung) schwach alkalisch zu machen.

Eine Methode, frische Eier als Nährboden für Mikroorganismen zu verwenden, hat Hueppe[3]) angegeben. Die frischen Eier werden äusserlich sorgfältig (mit Hülfe von Seife, Wasser und Bürste) gereinigt; dann wird die Schale mit Sublimatlösung sterilisirt, mit sterilisirtem Wasser abgespült und mit steriler Watte abgetrocknet. Nun wird an der Spitze des Eies mit ausgeglühter Nadel eine feine Oeffnung gemacht; durch die letztere hindurch wird mit Hülfe des Platindrahtes die Infection des Eies bewirkt. Darauf bedeckt man die Oeffnung mit einem kleinen Stück sterilisirten Seidenpapiers und befestigt das letztere mit Hülfe von Collodium fest an der Eischale, sodass die Oeffnung luftdicht verschlossen wird.

Um die Eisubstanz für sich, von der Eischale entblösst, zu

---

[1]) Die Methoden der Bakterienforschung. 4. Aufl. 1889. p. 234.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1889. No. 20.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 3. — Nach Hueppe's Ansicht ist das Wachsthum der Bakterien innerhalb des Eies ein wesentlich anaërobes. Von vollständiger Anaërobiose kann aber sicher keine Rede sein, da der atmosphärische Sauerstoff durch die Schale in das Innere des Eies hineindiffundirt. Die im Ei auftretenden, das spontane Verderben der Eier bewirkenden Bakterienarten sind sammt und sonders Aëroben (cf. Schrank, Wien. med. Jahrb. 1888. p. 320; Zörkendörfer, Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1893. p. 398).

Culturzwecken zu verwenden, verfährt Zörkendörfer[1]) auf folgende Weise: Das frische Ei wird aufgeschlagen, und das Eiweiss wird in der in der Küche üblichen Weise (nämlich indem man den Dotter mehrmals aus einer Schalenhälfte in die andere überfüllt) in ein (vorher im Trockenschrank sterilisirtes) Erlenmeyer'sches Kölbchen eingefüllt. Dann wird der ganze Dotter auf die Mündung des Kölbchens gelegt, und das letztere wird darauf in Eiswasser gestellt. Der Luftdruck presst nun den Dotter meist ohne Weiteres in das Kölbchen. Event. hilft man durch Blasen etwas nach. Man hat dann das ganze Ei mit unverletztem Dotter im Kölbchen; das letztere wird mit dem zugehörigen (sterilisirten) Wattepfropf verschlossen und dann zur sicheren Sterilisirung des Eies eine Reihe von Tagen je 1—2 Stunden einer Temperatur von 56° C. ausgesetzt. Man verfährt also genau so wie bei der Sterilisirung des Blutserums (cf. oben p. 119).

Zur Züchtung von Schimmelpilzen benutzt man mit Vortheil Brotbrei. Um denselben herzustellen, füllt man getrocknetes und zerriebenes Brot in Reagenzgläser bis etwa zur Höhe von 3 bis 4 cm (oder noch besser in Erlenmeyer'sche Kölbchen, etwa $1\frac{1}{2}$ cm hoch) ein. Man giebt dann so viel Wasser hinzu, dass das Brot völlig durchfeuchtet wird, verschliesst das Röhrchen resp. Kölbchen mit einem Wattepfropf und erhitzt nun behufs der Sterilisation an drei auf einander folgenden Tagen je 15 bis 20 Minuten im Dampftopf. Der Brotbrei reagirt sauer, ist also für Bakterien kein passender Nährboden.

3. Die wichtigsten Methoden der Bakteriencultur.

Zur Isolirung der einzelnen Arten aus einem Bakteriengemische bedient man sich jetzt fast ausschliesslich der Koch'schen Plattenculturmethode.[2]) Diese Methode setzt einen gelatinirenden Nährboden voraus, der im flüssigen Zustande mit dem Bakterienmaterial so beschickt wird, dass sich die einzelnen Keime möglichst gleichmässig in ihm vertheilen, der dann auf einer möglichst grossen Fläche ausgebreitet und dort zur Erstarrung gebracht wird. Dann sind die eingesäeten Keime örtlich fixirt und kommen zu isolirter Entwickelung. Als Nährboden kommt meist die gewöhnliche Nährgelatine (cf. oben p. 111) zur Verwendung. Nach der ursprünglichen Koch'schen Vorschrift verfährt man hierbei folgendermassen:

---

[1]) Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1893. p. 380.

[2]) Das Princip dieser Methode hat Koch zuerst angegeben in den Mitth. aus d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 27. Zeile 25—29 und p. 36. Zeile 11—14.

Es wird ein Reagenzglas, welches c. 10 ccm sterilisirte Nährgelatine enthält („Gelatineröhrchen"), genommen und sein unterer Theil über der Flamme (oder in c. 40° C. warmem Wasser) leicht erwärmt, so dass die Gelatine schmilzt. Ist bei der Erwärmung über der Flamme die Gelatine zu heiss geworden, so muss sie bis etwa zur Handwärme wieder abgekühlt werden. Nun wird das Gläschen so zwischen Daumen und Zeigefinger der mit dem Handteller nach oben gerichteten ausgestreckten linken Hand gesteckt, dass der Wattepfropf nach oben sieht. Mit der rechten Hand wird der letztere zunächst durch Drehen gelockert, dann heraus gezogen und zwischen den zweiten und dritten Finger der linken Hand so geklemmt, dass der im Glase befindlich gewesene Theil des Pfropfes von den Fingern nicht berührt wird.

Nun wird die Gelatine „inficirt". Das Inficiren geschieht mit Hülfe eines Platindrahtes, welcher etwa 6—7 cm lang, nicht zu dünn, und an einem etwa 20 cm langen Glasstabe angeschmolzen ist. Von derartigen Platindrähten hält man sich mehrere vorräthig. Einzelne sind geradlinig gestreckt; bei anderen ist das Ende zu einer etwa 2 mm im Durchmesser haltenden kreisförmigen Oese gebogen („Platinöse"). Je nachdem man nun ein Material vor sich hat, welches ausserordentlich reich an Bakterien ist (wie z. B. die Kahmhaut auf der Oberfläche eines faulenden Pflanzeninfuses), oder welches weniger reich an Bakterienkeimen ist (wie z. B. käufliche rohe Milch), nimmt man entweder mit der Spitze oder mit der Oese etwas von dem zu untersuchenden Material und bringt es in die Gelatine. An der Spitze nämlich bleiben stets erheblich geringere Quantitäten des Materials haften als an der Oese. Bevor man die Platindrähte benutzt, werden sie in dem Flammenmantel des Bunsenbrenners oder in der Spiritusflamme ausgeglüht, dann wieder erkalten gelassen.

Der inficirte Platindraht resp. die Platinöse werden in das Gelatineröhrchen so eingeführt, dass man eine Berührung der Wand des Gläschens mit dem Bakterienmateriale oberhalb der Gelatine möglichst vermeidet. Das ganze Material soll in die Gelatine gelangen und nicht etwa zu einem grösseren oder geringeren Theile am Glase hängen bleiben. Das Material wird dann durch Agitiren mit dem Platindrahte möglichst gleichmässig in der Gelatine vertheilt. Hat man consistenteres Material vor sich, welches sich nicht so leicht gleichmässig vertheilen lässt, so empfiehlt es sich, dasselbe dicht oberhalb der Gelatine an der Glaswand unter Zuhülfenahme kleiner Mengen Gelatine mit Hülfe des Platindrahtes zu zerreiben und dann durch Bewegen des Röhrchens in die Gelatine hineinzuspülen.

Auf jeden Fall kommt es also immer darauf an, das zu untersuchende Material in möglichst vertheiltem Zustande mit der Nährgelatine zu vermischen. Es giebt Fälle, in denen die hierzu nothwendige Zertheilung und Zerkleinerung des Materials auf dem geschilderten Wege nicht gelingt. Wenn wir z. B. ein Stückchen einer frischen Favusborke mit Hülfe des Platindrahtes in die geschmolzene Nährgelatine eintragen würden, so würde uns die nothwendige Zerkleinerung dieses Materials durch Agitiren etc. in keiner Weise gelingen. In solchen Fällen habe ich mir auf folgende Weise geholfen: Ich improvisirte mir eine sterilisirte Reibschale und ein sterilisirtes Pistill: erstere, indem ich ein reingeputztes Uhrschälchen über der Flamme stark erhitzte und dann erkalten liess; letzteres, indem ich ein leeres, trockenes, reingeputztes Reagenzglas an seinem geschlossenen Ende in der Flamme stark erhitzte und dann erkalten liess. Dann wurde etwas sterile Bouillon in das sterile Uhrschälchen gegossen, das zu zerkleinernde Material (Favusborke etc.) hineingegeben und mit Hülfe des „Reagenzglaspistills“ fein zerrieben. Hat man sich derartiges, mehr oder weniger zähe zusammenhängendes, Material auf die geschilderte Weise zertheilt und zerkleinert, so nimmt man dann eine Platinöse voll der das zerkleinerte Material enthaltenden Bouillon heraus, trägt die Oese in die geschmolzene Gelatine, die zur Plattencultur verwendet werden soll, ein, und es ist dann ein Leichtes, das Material gleichmässig in der Gelatine zu vertheilen.

Wir haben nun eine Portion Gelatine inficirt, wir haben das Keimgemisch, welches wir untersuchen wollen, möglichst sorgfältig in der Gelatine zer- und vertheilt, so dass die einzelnen Zellen möglichst aus einander liegen. Wir könnten nun, wie das nachher auch geschehen soll, die inficirte Gelatine auf eine sterile Glasplatte in möglichst dünner Schicht ausgiessen, und wir würden dann nach der Erstarrung der Gelatine, d. h. also nach der örtlichen Fixirung der einzelnen Keime, aus diesen einzelnen Keimen isolirte Colonien entstehen sehen.

Nun aber bringt es die Kleinheit der Bakterien mit sich, dass auch die kleinste Menge des Bakteriengemisches, die wir mit Hülfe des Platindrahtes in die Gelatine übertragen, gewöhnlich noch Tausende und aber Tausende von Zellen enthält. Es würden auf unserer Platte also ebenso viele Colonien zur Entwickelung gelangen, und diese würden dann so dicht gedrängt liegen müssen, dass kaum von einer isolirten Beobachtung derselben die Rede sein könnte, geschweige denn von einer weiteren Manipulation mit den einzelnen Colonien. Aus diesem Grunde begnügt man sich nie mit dem einen inficirten

Glase, sondern man macht ohne Weiteres von diesem Glase „Verdünnungen".

Zu dem Zwecke bringt man ursprünglich nicht nur in einem, sondern gleich in drei Gelatineröhrchen die Gelatine zum Schmelzen. Ist das erste Röhrchen („Original") mit der Bakterienmasse inficirt, so stellt man sofort ein zweites, noch sterilės Röhrchen neben das erste, also ebenfalls zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand, entfernt den Wattepfropf, klemmt diesen nun zwischen dritten und vierten Finger der linken Hand und überträgt dann eine Anzahl Platinösen (gewöhnlich drei) der inficirten Gelatine des Originalglases in das zweite Glas („Erste Verdünnung"). Nach gehöriger Vertheilung dieser drei Oesen in der Gelatine des zweiten Gläschens wird das Originalglas mit dem zugehörigen Wattepfropf verschlossen, beiseite gestellt, und es werden dann aus dem zweiten Gläschen wiederum drei Oesen Gelatine in das dritte, noch sterile Gläschen übertragen („Zweite Verdünnung").

Vorher bereits hat man sich die drei Platten, auf die man die Gelatine der drei Gläschen ausgiessen will, zurecht gelegt. Die Platten sind von nicht zu dickem Glase, rechteckig und messen etwa 8 : 13 cm. Sie müssen sorgfältig sterilisirt sein, ehe sie zur Benutzung kommen. Das Sterilisiren bewirkt man am besten in dem Trockenschrank (cf. p. 26). Die Platten werden zu dem Zwecke, rein geputzt und getrocknet, in grösserer Anzahl auf einander gelegt und in eine Tasche von starkem Eisenblech, die mit übergreifendem Deckel versehen ist („Plattentasche"), geschoben. Diese Tasche wird dann während etwa $^3/_4$ Stunden in dem Trockenschranke einer Temperatur von 160° C. oder darüber ausgesetzt. Nach dem Abkühlen[1]) werden drei von den Platten, die man aber nur an den Kanten berühren darf, aus der Tasche herausgenommen und nun über einander auf eine horizontal eingestellte Platte von starkem Glase gelegt, welche die Bedeckung einer mit Wasser und Eisstücken voll angefüllten Glasschale bildet (Koch's Giessapparat). Das Eiswasser kühlt die Glasplatten ab.[2]) Ueber die Platten wird eine Glasglocke gestülpt, welche das Auffliegen von Luftkeimen auf die Platten verhindert.

---

[1]) Das Abkühlen muss sehr langsam, am besten innerhalb des nach Abstellung der Heizung erkaltenden Trockenschrankes, geschehen, weil sonst die Platten gewöhnlich entzwei springen.

[2]) Rubner (Arch. f. Hyg. Bd. 11. 1890. p. 367) legt die Platten behufs der Abkühlung auf einen Kupferblechkasten, dessen horizontal gestellte obere Wand von unten her durch einen Aetherspray abgekühlt wird.

Verfügt man über einen Trockenschrank nicht, so kann man die Platten auch sehr bequem dadurch sterilisiren, dass man sie, indem man sie mit den Fingern an den Kanten festhält, beiderseits in der Gas- oder Spiritusflamme stark erhitzt. Man lässt sie dann unter einer Glasglocke abkühlen.

Wir gehen jetzt daran, unsere drei inficirten Gelatineröhrchen auf die zurechtgelegten, durch Eis abgekühlten Platten auszugiessen. Zu dem Zwecke nehmen wir zunächst das „Original"-Röhrchen in die rechte Hand, entfernen den Wattepfropf, den wir sofort in eine Schale mit Desinfectionsflüssigkeit[1]) werfen. Wir bringen dann das schräg gehaltene Röhrchen mit seiner Mündung mehrere Secunden lang in die Flamme, indem wir es durch Bewegung mit den Fingern schnell um seine Achse rotiren lassen. Dabei wird der Rand des Gläschens „abgeglüht", die dort befindlichen, aus der Luft zufällig aufgefallenen Keime werden „abgebrannt". Wir müssen dies thun, um diese Keime nicht nachher beim Ausgiessen mit auf die Platte zu bekommen. Nachdem der Rand des Gläschens wieder abgekühlt ist, wird nun der über die Platten gestülpte Deckel (die Glasglocke) des Giessapparates mit der linken Hand in die Höhe gehoben, und es wird nun die inficirte Gelatine des Originalglases in einem Zuge auf die Mitte der obersten Platte ausgegossen. Unmittelbar darauf sorgt man für möglichste Flächenausbreitung der Gelatine dadurch, dass man dieselbe mit dem Rand des Röhrchens direct auf der Platte ausstreicht und vertheilt. Die Gelatine soll hierbei überall etwa 1 cm vom Rande der Platte entfernt bleiben; denn den Rand resp. die Kanten der Platte haben wir mit den Fingern berührt und werden wir weiterhin noch berühren. Diese Theile sind also nicht als steril zu betrachten; sie würden uns fremde Keime auf unsere Platte bringen.

Nun wird der Deckel wieder auf den Giessapparat aufgesetzt; das seiner Gelatine entledigte Röhrchen kommt in die Desinfectionsflüssigkeit (s. oben).

Innerhalb des Bruchtheils einer Minute ist dann die Gelatine erstarrt. Die Platte wird nun nach Lüftung des Deckels, indem man sie an den Kanten erfasst, von den darunter liegenden Platten abgehoben und in querer Lage auf ein etwa $5^1/_2$ cm breites, 14 cm langes Glasbänkchen gelegt, welches aus einer Glasplatte von den angegebenen Dimensionen und zwei unter die Enden derselben mit

---

[1]) Hierzu eignet sich besonders gut eine etwa 5 procentige wässerige Lösung der oben (p. 32) angegebenen rohen Schwefelcarbolsäure; auch die bereits (p. 121) genannte Salzsäuresublimatlösung lässt sich verwenden.

Siegellack festgekitteten vierkantigen Glasklötzchen (von etwa $5^1/_2$ cm Länge, 1 cm Breite, 7 mm Höhe) hergestellt ist. Zwischen Glasbänkchen und Platte legt man einen Papierzettel, welcher die genaue Bezeichnung des Platteninhaltes und das Datum enthält. Man hat sich gewöhnt, die Originalplatte mit „O“, die erste Verdünnung mit „I“, die zweite mit „II“ zu bezeichnen. Das Bänkchen wird dann mit der Platte in die feuchte Kammer gestellt, die man sich ebenso herstellt, wie wir es oben (p. 122) für die nach der ursprünglichen Koch'schen Methode hergestellten Kartoffelculturen angegeben haben.

Nun wird das zweite Röhrchen, die erste Verdünnung, auf die zweite auf dem Giessapparat liegende Platte, in derselben Weise wie vorher das Originalröhrchen, ausgegossen, dann nach dem Erstarren der Gelatine die Platte auf ein bezeichnetes Bänkchen gelegt und das letztere auf das Bänkchen der Originalplatte in die feuchte Kammer gestellt. In derselben Weise wird auch das dritte Röhrchen behandelt, und das dritte Bänkchen schliesslich auf das zweite Bänkchen in die feuchte Kammer gestellt. Die letztere bleibt nun bei Zimmertemperatur stehen. Am günstigsten ist im Allgemeinen für die Gelatineculturen eine Temperatur von 18—20° C.

Haben die Plattenculturen 24 Stunden bei den angegebenen Temperaturen gestanden, so zeigt die Originalplatte gewöhnlich schon bei der Betrachtung mit blossem Auge eine mehr oder weniger auffallende Trübung; und bei schwacher Vergrösserung sieht man dann gewöhnlich äusserst zahlreiche, sehr kleine, mehr oder weniger rundliche, dichtstehende dunkle Flecken, von denen jeder eine Colonie repräsentirt, die aus einem einzelnen Keime hervorgegangen ist. An den Verdünnungsplatten sieht man dann gewöhnlich makroskopisch noch nichts; aber in den nächsten Tagen, wenn das Wachsthum mehr vorgeschritten ist, kommen hier die isolirten Colonien schon makroskopisch zur Geltung. Man sieht dann oft ohne Weiteres schon mit blossem Auge, dass man es nicht mit einer einzigen Bakterienart zu thun hat, sondern dass auf der Platte verschiedenartige Keime zur Entwickelung gelangt sind. Denn ein ceteris paribus verschiedenartiges Aussehen der Colonie berechtigt natürlich ohne Weiteres zu dem Schlusse, dass es sich um verschiedene Arten handelt.

Wir sehen hier z. B. eine Colonie, die als weisses Häufchen erscheint, welches auf der Gelatineoberfläche aufsitzt; eine andere Colonie characterisirt sich als ein mehr flächenhaft ausgebreitetes irisirendes Häutchen, welches die Oberfläche der Gelatine überzogen hat. Dann fällt uns eine andere Colonie durch ihre lebhafte (z. B. gelbe oder rosa) Färbung auf. Alle diese Colonien haben die umgebende Gelatine

intact gelassen. Andere haben die Gelatine an der Stelle ihres Wachsthums verflüssigt; bei der einen Colonie ist diese Verflüssigung stärker, bei der anderen weniger stark ausgesprochen. So finden wir schon makroskopisch hier und da Unterschiede der verschiedenartigen Organismen, welche zur Entwickelung auf der Platte gelangt sind. Wir werden uns aber nicht begnügen, die Untersuchung makroskopisch vorzunehmen; wir legen vielmehr unsere Platte auf den Objecttisch des Mikroskopes und mustern sie mit schwachem System. Nach den oben (p. 53 ff.) gegebenen Auseinandersetzungen über die mikroskopische Beleuchtung werden wir hierbei den Abbe'schen Apparat durch enge Blende abblenden müssen.[1])

Bei der mikroskopischen Betrachtung der Platte kommen nun morphologische Eigenschaften der Colonien zu unserer Kenntniss, von denen wir vorher nichts gesehen haben. Zunächst ist ein allgemeiner Unterschied zwischen solchen Colonien zu machen, welche innerhalb der Gelatine liegen, und solchen, die sich an der Oberfläche befinden oder bei ihrem Wachsthum die Oberfläche erreicht haben. Während die ersteren sich meist als mehr oder weniger rundliche Gebilde darstellen, zeigen die letzteren eine viel grössere Mannichfaltigkeit in ihrer Gestalt. Abgesehen von der verschiedenen räumlichen Ausdehnung sehen wir z. B. characteristische Unterschiede der Colonien in der Gestaltung des Randes. Die einen haben einen ganz glatten, die anderen einen mehr buckeligen, unregelmässig gekerbten Rand. Andere zeigen eine deutlich lockenförmige Gestaltung des Randes, gebildet von in zierlichen Windungen neben einander herlaufenden Zügen von Bacillenfäden; andere senden weite, fadenförmige Ausläufer aus; bei anderen erscheint der Rand der kreisrunden Colonie wie mit feinsten Stacheln besetzt. Und wie in der Gestaltung des Randes, so zeigen die Colonien auch in ihrem Inhalte erhebliche Differenzen unter einander. Die einen zeigen ein grobkörniges, andere ein feinkörniges, fast homogenes Gefüge. So giebt es die mannigfachsten Unterschiede in der Gestaltung und dem Aussehen, und jeder Unterschied deutet sofort auf eine Verschiedenartigkeit der Keime, aus denen die Colonien entstanden sind.

Stellt man bei der Betrachtung der Platte mit schwachem Mikroskopsystem eine bestimmte Colonie ein, so macht man ganz regelmässig die Beobachtung, dass die Colonie ein verschiedenes Aussehen

---

[1]) Während wir bekanntlich (cf. oben p. 53) bei Benutzung des Abbe'schen Condensors im Allgemeinen stets den Planspiegel anwenden, ist es für schwache Vergrösserungen (also auch für den vorliegenden Fall), speciell bei Verwendung von Lampenlicht, angängig, den Hohlspiegel zu gebrauchen (cf. p. 53, Anm. 2).

darbietet, je nachdem die Einstellung eine „hohe“ oder eine „tiefe“ ist. Da nämlich die Bakteriencolonie ein relativ dickes Gebilde ist, so ist es nicht möglich, sie gleichzeitig in allen einzelnen Theilen scharf einzustellen. Eine innerhalb der Gelatine liegende Colonie wird in ihrer äusseren Begrenzung naturgemäss bei einer mittleren Einstellung am schärfsten erscheinen. Verändert man nun die Einstellung, geht man aus der mittleren Stellung mit dem Tubus mehr nach oben oder mehr nach unten, so beobachtet man nicht nur eine Abnahme der Schärfe der äusseren Begrenzung der Colonie, sondern man sieht, dass auch die Helligkeitsverhältnisse der inneren Theile der Colonie sich verändern. Colonien, welche innerhalb der Gelatine liegen, zeigen bei hoher Einstellung ein hellglänzendes Innere; bei tiefer Einstellung erscheint das Innere dunkel. Es hat das einfach darin seinen Grund, dass die die Colonie zusammensetzende Bakterienmasse ein höheres Lichtbrechungsvermögen besitzt als die umgebende Gelatine, und dass deshalb die rundliche Colonie wie eine kleine Convexlinse wirkt. Es giebt aber auch Colonien, die wie Concavlinsen wirken, und die dementsprechend bei tiefer Einstellung glänzen und bei hoher dunkel erscheinen; das sind ausnahmslos verflüssigende Colonien, die an der Oberfläche der Gelatine sitzen. Wo nämlich an der Oberfläche der Gelatineplatte eine verflüssigende Colonie sich entwickelt, da kommt es stets zu einem sichtbaren Defect des Nährbodens, zur Bildung einer Einsenkung, einer Delle, und zwar einfach aus dem Grunde, weil die verflüssigte Gelatine mehr Wasser durch Verdunstung abgiebt als die benachbarte fest gebliebene Gelatine. Mit der Ausbildung einer solchen oberflächlichen Einsenkung ist aber ohne Weiteres die Concavlinse fertig gestellt.

Betrachten wir die in unseren Tafeln dargestellten Plattencolonien, so zeigt zunächst Fig. 22 auf Taf. IV eine Stelle aus einer Plattencultur, welche mit Heustaub angelegt wurde, nach zweitägigem Wachsthum, bei 25facher Vergrösserung. Wir sehen da links oben mehrere kleinere Colonien, die als dunkle Flecken erscheinen; mehr nach rechts hinüber liegen mehrere grössere Colonien von ähnlichem Aussehen, die sich z. Th. decken; alle diese Colonien gehören wahrscheinlich Bakterien an. Dazwischen aber sehen wir zwei Schimmelpilzcolonien ihre zarten Mycelien aussenden. Wir sehen diesen Colonien es ohne Weiteres an, dass sie nicht Bakterien, sondern Fadenpilzen angehören: denn wir können hier bei 25facher Vergrösserung (das Photogramm wird man zweckmässig mit der Loupe betrachten) bereits die beiden Contouren der überall gleich starken Mycelfäden deutlich

unterscheiden. Diese Gebilde sind viel dicker, als ein einzelner Bacillenfaden es sein würde; und, zögen mehrere oder viele Bacillenfäden neben einander her, die in ihrer Gesammtdicke einem solchen Pilzmycelfaden entsprechen würden, so würden wir an einzelnen Stellen dünnere, an anderen Stellen dickere Gebilde (je nach der Menge der zusammenliegenden Bacillenfäden verschieden) sehen müssen. Die doppelt-contourirten, überall gleich starken Fäden, welche wir bereits bei so schwachen Vergrösserungen deutlich sehen, lassen stets mit Bestimmtheit auf Fadenpilze schliessen.

Plattenculturen bei schwacher Vergrösserung zeigen ferner Fig. 29, Taf. V (Milzbrandbacillus), sowie Fig. 61 und 62, Taf. XI (Cholerabacillus). Die erstere ist bei 43 facher, die letzteren sind bei 100 facher Vergrösserung dargestellt. Man sieht das fundamental verschiedenartige Wachsthum dieser beiden Organismen in der Plattencolonie. Auf Taf. IV, Fig. 23, ist eine Plattencolonie der von mir öfters im Berliner Leitungswasser gefundenen (cf. p. 19) Cladothrix bei 100 facher Vergrösserung abgebildet.

Will man eine Colonie bei stärkerer Vergrösserung (mit starkem Trockensystem oder mit der Immersion) direct untersuchen, so muss man auf die Platte ein Deckglas auflegen und die Platte nun wie ein gewöhnliches mikroskopisches Präparat behandeln. Auf die spätere weitere Benutzung der Colonie zur Entnahme von Material behufs der Weiterzüchtung etc. muss man dann allerdings verzichten. Auf Taf. XII, Fig. 72, ist ein auf diese Weise mit starkem Trockensystem gewonnenes Bild dargestellt.

Ist das Wachsthum der Plattencultur noch nicht zu weit vorgeschritten, so gelingt es meist, sich recht schöne Situsbilder der oberflächlichen Colonien dauernd zu fixiren in Form der sogenannten Klatschpräparate (Contactpräparate).[1] Verflüssigende Arten eignen sich hierzu allerdings nur so lange, als die Verflüssigung noch nicht augenfällig geworden ist, so lange die Gelatine in dem Bereiche der Colonie noch nicht eigentlich verflüssigt ist, höchstens etwas weicher zu werden beginnt.

Ueberhaupt eignen sich junge Colonien besser als alte für diese Präparation.

Um sich ein solches Klatschpräparat darzustellen, legt man ein rein geputztes Deckglas mit der Pincette auf die Platte auf, lässt es einen Augenblick los und nimmt es dann mit Hülfe der Pincette von

---

[1]) cf. R. Koch. Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 54.

der Gelatineoberfläche wieder herunter. Man hat dann einen Abklatsch der oberflächlichen Colonien auf dem Deckglase. Nachdem man ein solches Präparat recht sorgfältig hat lufttrocken werden lassen, fixirt man es in gewohnter Weise in der Flamme, färbt es wie ein gewöhnliches Trockenpräparat und schliesst es in Balsam ein. Man bekommt so nicht allein dauernde Bilder von der Lagerung der Organismen zu einander innerhalb der Colonie, man erhält so überhaupt die klarsten, distinctesten Bilder der einzelnen Bakterienzellen. Die diesem Buche beigegebenen Photogramme sind zum Theil nach solchen „Klatschpräparaten“ hergestellt. Speciell will ich auf Fig. 31 (Taf. VI) aufmerksam machen. Hier haben wir ein Klatschpräparat von Milzbrandbacillenfäden bei 1000facher Vergrösserung. Das Präparat stellt den Abklatsch einer Plattencultur dar, welche auf Taf. V, Fig. 30, bei 40facher Vergrösserung abgebildet ist. (Diese Plattencultur ist nach Strichimpfung des Bacillenmaterials auf sterile, auf die Platte ausgegossene und dann erstarrte Gelatine [cf. unten p. 142] entstanden). Die feinen Locken der Cultur Fig. 30 lösen sich in Fig. 31 in die deutlich gegliederten Bacillenfäden auf.

Kehren wir nun zu unserer Plattencultur, in welcher sich aus den in der Gelatine vertheilten Keimen einzelne, isolirt liegende Colonien entwickelt haben, zurück. Würden wir dieselbe sich selbst überlassen, so würden mit weiterschreitendem Wachsthum die Colonien allmählich mit ihren Grenzen an und in einander gerathen, und dann wäre es mit der Isolirung der Colonien vorbei. So sehen wir denn auch auf den Originalplatten, wo die Colonien gewöhnlich äusserst dicht gedrängt liegen, derartige Zustände in der Regel eintreten. Eine solche Platte bietet nach wenigen Tagen bereits ein undefinirbares Chaos von Bakteriencolonien dar. Sind dann verflüssigende Arten unter den eingesäeten Bakterien, so fliesst die Gelatine gewöhnlich nach mehreren Tagen vom Glase herunter: „Die Platte ist verflüssigt“ und damit definitiv unbrauchbar.

Die Verdünnungen aber lassen wir so weit nicht kommen. Nachdem wir die Colonien zunächst bei schwacher Vergrösserung untersucht, uns dann von der oder jener Colonie ein Präparat im hängenden Tropfen resp. ein gefärbtes Trockenpräparat angefertigt haben, um uns durch Betrachtung bei starken Vergrösserungen weitere Aufschlüsse über die Colonien zu holen, benutzen wir diejenigen Colonien, die uns aus irgend welchem Grunde interessiren, so lange sie noch isolirt in der Gelatine liegen, dazu, von ihnen Material zu entnehmen, um dieses in geeigneter Weise weiter zu züchten. Da die Colonie auf der Platte

eine Reincultur war, so müssen jetzt auch die davon weiter gezüchteten Culturen Reinculturen repräsentiren.

Die Weiterzüchtungen werden gewöhnlich im Reagenzglase vorgenommen („Reagenzglasculturen"). Hat man das Material einmal in reinem Zustande auf den im Reagenzglase befindlichen Nährboden gebracht, so sorgt dann der Watteverschluss des Glases dafür, dass die Cultur rein bleibt. Die Reagenzglasculturen eignen sich also vor allem dazu, eine Sammlung lebender Bakterienreinculturen dauernd im Stand zu erhalten.[1])

Die gebräuchlichste Form der Reagenzglascultur ist die Gelatine-Stichcultur. Um eine solche Cultur mit dem Material einer bestimmten Plattencolonie anzulegen, verfährt man auf folgende Weise: Es wird zunächst die Colonie unter dem Mikroskope bei schwacher Vergrösserung, wie oben (p. 130) auseinandergesetzt, eingestellt. Man überzeugt sich, dass die Colonie auch thatsächlich isolirt liegt, dass sie ein homogenes, concentrisch gewachsenes Ganzes repräsentirt, dass nicht etwa eine Nachbarcolonie ihre Grenzen ganz in die Nähe vorgeschoben oder gar Theile der Colonie verdeckt hat. Von einer Colonie, die die letzteren Charactere zeigt, dürften wir nichts zur Weiterzüchtung entnehmen, da hier keine Bürgschaft für die Uebertragung thatsächlich reinen Materials vorhanden wäre. Haben wir aber eine Colonie gefunden, die genügend isolirt innerhalb der klar durchsichtigen, d. h. sterilen, Gelatine liegt, so suchen wir nun, ohne die Platte von dem Objecttische zu entfernen, mit blossen Augen festzustellen, welches die eingestellte Colonie ist. Es gelingt dies stets ohne Schwierigkeiten, wenn man central über der oberen Linse des Abbe'schen Beleuchtungsapparates die dort vorhandenen Colonien mit dem Auge aufsucht, ihre gegenseitige Lagerung, ihre Grössenverhältnisse etc. berücksichtigt.

[1]) Zu diesem Zweck ist es selbstverständlich nothwendig, dass die einzelnen Culturen zu rechter Zeit, d. h. ehe sie (durch eintretenden Nahrungsmangel, durch Austrocknen etc.) abgestorben sind, auf neuen Nährboden übertragen, „umgezüchtet" werden. Im Allgemeinen empfiehlt es sich, die Culturen in Zwischenräumen von etwa 4 bis 6 Wochen auf neuen Nährboden zu übertragen. — Es sei an dieser Stelle bemerkt, dass es sich bei dem Oeffnen einer Reagenzglascultur (behufs der Entnahme von Material) stets empfiehlt, nach der Entfernung des Wattepfropfs den Rand der Oeffnung des Gläschens abzuglühen (in derselben Weise, wie es bei dem Anlegen von Platteneulturen [cf. oben p. 128] geschieht). Man vermeidet dadurch fast mit absoluter Sicherheit das Hineingelangen von verunreinigenden Stäubchen, die an der Oeffnung des Glases hafteten, in die Cultur. Ebenso würde ich ganz allgemein empfehlen, auch jedes Reagenzglas, in welches hinein eine Uebertragung geschehen soll, nach Entfernung des Wattepfropfs an der Oeffnung durch Ausglühen zu sterilisiren. Ich beobachte diese Vorsichtsmassregeln seit Jahren und habe seit dieser Zeit fast nie die Verunreinigung einer Reagenzglascultur gesehen.

Nachdem man dann den Tubus in die Höhe geschraubt hat, geht man, ohne die Platte zu verschieben, mit einem ausgeglühten und wieder erkalteten Platindraht (mit gerade endender Spitze) auf die Colonie zu und entnimmt von ihr, aber nur von ihr, eine Spur mit der Spitze des Platindrahtes.[1] Dieses Entnehmen des Materiales von der Platte bezeichnet man als „Fischen". Man nimmt nun ein Reagenzglas mit erstarrter Nährgelatine, bringt es zwischen Daumen und Zeigefinger der linken Hand so, dass die Oeffnung des Glases nach der Volarseite hin gerichtet ist, entfernt durch Drehen den Wattepfropf, bringt ihn in der oben (p. 125) geschilderten Weise zwischen 2. und 3. Finger der linken Hand und sticht nun, während man das Gläschen mit der Oeffnung nach unten gekehrt hält, den inficirten Platindraht unter vorsichtiger Vermeidung der Berührung der Glaswandungen central in die Gelatine hinein, bis nahe an den Boden des Glases. Man geht dann auf demselben Wege wieder aus der Gelatine heraus, glüht den Draht aus, stellt ihn bei Seite, bringt den Wattepfropf wieder auf das Reagenzglas und bezeichnet nun das letztere durch ein Etikett, welches in der Nähe der Oeffnung des Glases angeklebt wird, und welches die näheren Daten über das „eingestochene" Material und das Datum angiebt. Nun überzeugt man sich durch Herunterschrauben des Tubus und nochmalige mikroskopische Einstellung der vorher eingestellt gewesenen Plattenstelle davon, dass auch wirklich Material von der in der optischen Achse liegenden Colonie entnommen wurde. Dieselbe muss einen deutlich sichtbaren Defect zeigen. Die Nachbarcolonien müssen unverletzt sein.

Die Verschiedenheiten der Form, welche wir bei den Plattencolonien gefunden haben, zeigen sich nun auch in entsprechender Weise bei der Form der Stichculturen wieder. Auch hier haben wir wieder die Unterschiede zwischen solchen Arten, die die Gelatine solide lassen,

---

[1]) Wenn die Colonien ziemlich dicht zusammenliegen, so hat die sichere isolirte Entnahme des Materials von der central eingestellten Colonie naturgemäss ihre grossen Schwierigkeiten. Für solche Fälle hat Unna (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 278) ein besonderes Instrument, die „Bakterionharpune" angegeben (von C. Zeiss in Jena zu beziehen): Nachdem man die Colonie mit schwachem System central eingestellt hat, hebt man den Tubus, schraubt das Objectiv ab und an seiner Stelle die Bakterienharpune (welche das Objectivgewinde trägt) an. Senkt man nun den Tubus wieder, so trifft eine an dem genannten Instrumente genau in der optischen Achse angebrachte Nähnadel mit ihrer (vorher ausgeglühten) Spitze genau die vorher central eingestellte Colonie. — Freymuth und Lickfett (Deutsche med. Wochenschr. 1893. p. 457) haben die Bakterienharpune in der Weise modificirt, dass sie statt der Nähnadel eine an ihrem unteren Ende quer abgeschliffene Pravaz-Canüle anwenden, welche locheisenartig wirkt und die Colonie direct aussticht.

und solchen, die sie verflüssigen. Unter den ersteren finden wir solche, die im ganzen Bereiche des „Impfstiches" gleich kräftig wachsen, andere, die besonders in den oberen Theilen desselben gedeihen. Die eine Art bildet halbkugelige Häufchen, nimmt nur einen kleinen Theil der Gelatineoberfläche in Anspruch; die andere hat die Tendenz, sich oberflächlich gleich in grösserem Masse auszubreiten, ein dünnes Häutchen zu bilden. Unter den verflüssigenden Arten verflüssigen die einen sehr langsam und allmählich die Gelatine, andere schneller, noch andere ausserordentlich rasch. Farbstoffproducirende Arten zeigen manchmal im ganzen Verlaufe des Impfstiches ebenso wie an der Oberfläche der Gelatine Farbstoffproduction; andere Arten bilden nur an der Oberfläche der Gelatine Farbstoff, wachsen im ganzen Impfstiche farblos; noch andere endlich wachsen an der Oberfläche farblos, während sie im Impfstiche Farbstoff produciren. In den Stichculturen findet man also das verschiedenartigste Verhalten, ebenso wie es auf der Platte der Fall war. Zu nennen ist hier ferner die Eigenthümlichkeit vieler Arten, Gas zu produciren.[1]) Auf der Platte kommt diese Eigenschaft kaum zum Ausdruck; an der Stichcultur aber können wir dieselbe meist sehr deutlich constatiren: die Gelatine bekommt mehr oder weniger ausgedehnte Risse, welche von dem Impfstiche ausgehen. Wenn die Risse klein sind, so haben sie meist linsenförmige Gestalt.

Gelatine-Stichculturen sind abgebildet auf Taf. VI, Fig. 33; Taf, IX, Fig. 54; Taf. XI, Fig. 63 und 64; man bemerkt hier ohne Weiteres die augenfälligen Unterschiede in der Gestaltung der Stichcultur bei den verschiedenartigen Organismen.

Eine andere Form der Reagenzglasculturen ist die Oberflächen-Strichcultur. Hier wird das Material nicht in die Gelatine eingestochen, sondern oberflächlich, gewöhnlich in einem einzigen, sehr dünnen Striche, auf den Nährboden aufgestrichen („Impfstrich").[2])

---

[1]) Die Gasproduction bei Bakterienwachsthum lässt sich am besten durch Züchtung des Materials in den (in physiologisch-chemischen Laboratorien gebräuchlichen) „Gährungskölbchen" studiren, in deren geschlossenem Schenkel sich die producirten Gase ansammeln. Die Züchtung muss hier in flüssigen Nährböden geschehen; am besten eignet sich eine mit c. 2 % Traubenzucker versetzte Nährbouillon. Die Gährungskölbchen sind für bakteriologische Zwecke von Th. Smith (Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 16) empfohlen worden.

[2]) Selbstverständlich hat man bei jeder Uebertragung für eine innige Verbindung des Impfmaterials mit dem Nährboden zu sorgen. Bei frischen (normal wasserhaltigen) Nährböden und frischem (feuchten) Bakterienmaterial ist diese innige Verbindung durch blosses Aufstreichen ohne Weiteres hergestellt. Hat man trockenes Material (Pilzmycelien etc.) zu verimpfen, so empfiehlt es sich stets, der Oberfläche

Am besten bedient man sich dazu solcher Röhrchen, in denen der Nährboden (Gelatine, Agar, Blutserum) in schräger Lage zur Erstarrung gebracht worden ist (cf. oben p. 118). Ferner eignen sich hierzu die sterilisirten Kartoffelkeile, welche in Reagenzgläschen eingeschlossen sind (cf. oben p. 122). Hat man nicht verflüssigende Arten vor sich, so kann man sie auf schräg erstarrter Gelatine oder auf Blutserum ausstreichen. Bei verflüssigenden Arten empfiehlt sich dies natürlich nicht; man nimmt hier zweckmässig den nicht zu verflüssigenden Agar-Nährboden oder die Kartoffel. Eine oberflächliche Strichcultur auf Gelatine zeigt Taf. VIII, Fig. 48. Hier ist der (nicht verflüssigende) Typhusbacillus auf die schräg erstarrte Gelatine aufgestrichen worden.

Ebenso wie auf festen Nährboden kann man natürlich auch auf flüssige sterile Nährböden, die im Reagenzglase unter Watteverschluss enthalten sind, das reine Material der Plattencolonie übertragen. Speciell empfiehlt sich für pathogene Organismen hierzu die oben (p. 118) erwähnte Nährbouillon. Man wählt die „Bouilloncultur" besonders gern dann, wenn es sich um die Darstellung grösserer Mengen reinen Culturmaterials handelt, die für irgend welche Zwecke gebraucht werden sollen.

Auch in Reagenzgläser mit sterilisirter Milch, mit sterilisirtem Urin, mit bestimmten chemischen Nährlösungen etc. kann man das Material aus der Plattencolonie übertragen.

So wie man diese Weiterzüchtungen aber im Reagenzglase vornehmen kann, so kann dies natürlich auch in beliebiger anderer Weise geschehen, z. B. auf den nach der ursprünglichen Koch'schen oder nach der Esmarch'schen Methode präparirten Kartoffeln (cf. pag. 120. 122). Die Kartoffeln inficirt man am besten mit Hülfe eines Skalpells, welches ausgeglüht wurde und wieder erkaltet ist, und mit dessen in das Bakterienmaterial getauchter Spitze man das Material in die Kartoffelfläche einreibt. Die nach Koch'scher Weise präparirte Kartoffel wird hierbei mit „Sublimatfingern" (cf. p. 121) festgehalten. Bei dem Inficiren der Kartoffel bleibt man mit dem inficirenden Skalpell gern 1 cm vom Rande der Kartoffel entfernt, da Verunreinigungen der Cultur, die von der Kartoffel selbst ausgehen, gewöhnlich am Rande der Kartoffel sich zuerst zeigen. Hierher gehören z. B. die die Kartoffelculturen so oft verderbenden „Kartoffelbacillen", welche aus

des Nährbodens zunächst kleine Verletzungen (durch Anstechen mit dem Platindraht) beizubringen und in diese hinein dann das Material sorgfältig einzubringen oder einzureiben.

Sporen entstehen, die der Kartoffel äusserlich anhafteten und bei der Sterilisirung derselben nicht getödtet wurden.

Ferner kann die Uebertragung von der Platte in einen hängenden Tropfen (von Bouillon oder von Gelatine) hinein geschehen, der ebenso präparirt wird, wie oben (p. 49) angegeben, nur dass man ein steriles Deckglas (durch starkes Erhitzen in der Flamme sterilisirt) und steriles Material für den Tropfen selbst wählt. Die sich entwickelnde „Cultur im hängenden Tropfen“ gestattet, die Wachsthumserscheinungen der Bakterien unter dem Mikroskope direct zu verfolgen.[1])

Die ursprüngliche Koch'sche Plattenculturmethode ist nun mannigfach modificirt worden. Zunächst ist hier ein Verfahren zu nennen, welches manche Vortheile vor dem ursprünglichen Koch'schen Verfahren darbietet, und welches von Petri[2]) stammt. Petri nimmt keine Glasplatten als Träger des Nährbodens, sondern an Stelle dieser runde Glasschälchen von 10—11 cm Durchmesser und 1—1,5 cm Höhe. Jedes Glasschälchen wird durch ein etwas grösseres, als Deckel dienendes ähnliches Schälchen vor Staub etc. geschützt. Die Doppelschälchen werden, rein geputzt, auf einander gestellt, im Trockenschrank sterilisirt (cf. p. 127) und können nach dem Erkalten benutzt werden. Ein besonderer „Giessapparat“ wie bei dem Koch'schen Verfahren ist hier nicht nöthig. Die Gelatine wird einfach eingegossen, die Schale zugedeckt und dann sich selbst überlassen. Diese Methode wird jetzt sehr viel, häufiger als die ursprüngliche Koch'sche, angewandt. Es ist aber zu bemerken, dass die mikroskopische Untersuchung[3]) derartiger Schälchenculturen etwas weniger bequem ist als die der Koch'schen Platten.

---

[1]) Bei solchem Material, welches bei Körpertemperatur besser wächst als bei Zimmertemperatur, wird das Mikroskop zu diesem Behufe am besten so disponirt, dass der Objecttisch und das auf ihm liegende Culturpräparat in einem auf Körpertemperatur erwärmten Raume stehen (cf. unten im Text: Besprechung des Brütschrankes).

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 9.

[3]) Man kann diese Schälchenculturen mit schwachem System sowohl von oben her (nach Abhebung der Deckelschale) wie auch durch den Schälchenboden hindurch, also von der Unterseite her, mikroskopisch ansehen; in dem letzteren Falle braucht die Deckelschale selbstverständlich nicht entfernt zu werden. Ist die Oberfläche des Schälchenbodens an der unter dem Mikroskope liegenden Stelle so uneben, dass eine wesentliche Verzerrung des Bildes bei der Mikroskopirung durch diesen Boden hindurch zu Stande kommt, so kann man sich dadurch helfen, dass man auf das Glas an dieser Stelle einen Tropfen Cedernöl und auf diesen ein Deckglas bringt. Man verleiht auf diese Weise dem Schälchen eine ebene Oberfläche, und die Bilder der hier liegenden Colonien erscheinen nun ohne jede Verzerrung.

Eine andere Modification der ursprünglichen Koch'schen Plattenmethode hat v. Esmarch[1]) angegeben. Die Gelatine wird hierbei weder auf Platten noch in Schälchen ausgegossen, sondern an der Innenwand des Reagenzröhrchens, in dem sie sich befindet, direct ausgebreitet. Man bewerkstelligt dies so, dass man nach der Inficirung der geschmolzenen Gelatine den Wattepfropf in das Röhrchen soweit hineinstösst, dass er vollständig im Glase verschwindet, dass man dann eine Gummikappe über die Oeffnung des Röhrchens herüberzieht, die einen wasserdichten Abschluss bewirkt, und dass man nun das Röhrchen horizontal auf die Oberfläche sehr kalten (event. Eis-) Wassers legt und dann das Röhrchen mit den Fingern in gleichmässige schnelle Rotation versetzt. Die Gelatine wird dann bald fest und überzieht das Glas an seiner Innenfläche mehr oder weniger gleichmässig. Nachher wird das Röhrchen aus dem Wasser herausgenommen, die Gummikappe entfernt, das Röhrchen etikettirt und zur Entwickelung der Colonien hingestellt. Diese „Rollröhrchen“, „Rollplatten“ sind am besten von allen Plattenculturen gegen die Verunreinigung durch fremde Keime geschützt. Haben sich die isolirten Colonien innerhalb der „ausgerollten“ Gelatine entwickelt, so kann man sie sowohl mikroskopisch untersuchen (durch die Glaswand hindurch[2])), als auch, unter Benutzung eines an der Spitze gekrümmten Platindrahtes, von ihnen Material zur Anlage weiterer Culturen entnehmen. Eine derartige Rollplatte (oder wenigstens einen Theil von ihr) zeigt Fig. 24 auf Taf. IV. Dieselbe wurde mit Gartenerde angelegt. Man sieht hier im Centrum mehrerer Colonien noch die schwarzen Erdbröckelchen, von denen das Wachsthum ausgegangen ist.

Die bis jetzt genannten Methoden der Plattencultur haben alle das Gemeinsame, dass sie zur Anlage einer jeden einzelnen Cultur ein besonderes Gelatineröhrchen brauchen. Kommt es Einem im gegebenen Falle auch nur auf die die Verdünnungen enthaltenden Culturplatten an, so ist man doch genöthigt, zunächst ein „Original“-Röhrchen zu inficiren, um von diesem wieder Verdünnungsröhrchen anzu-

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

[2]) Um das mikroskopische Bild bei dieser Gelegenheit besser zu gestalten, als es die gekrümmte Aussenfläche des Reagenzglases an und für sich zulässt, habe ich (cf. auch p. 138, Anm. 3) an der zu untersuchenden Stelle einen Tropfen Cedernöl auf die Glaswand gebracht und auf diesen ein Deckglas, dessen freie Oberfläche in senkrechte Richtung zur optischen Achse des Mikroskopes gebracht wird. Man bekommt so naturgemäss vortreffliche Bilder der Colonien. — Einen zweckmässigen Reagenzglashalter für die Rollplatten zum Aufsetzen auf den Objecttisch hat v. Sehlen (Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 7. 1890) angegeben.

legen. Eine Methode, welche Soyka[1]) angegeben hat, vereinfacht die Procedur und spart Material. Soyka empfiehlt Doppelschälchen zur Anlage der Plattenculturen, welche den Petri'schen im Allgemeinen ähnlich sind, sich aber dadurch von ihnen unterscheiden, dass in die untere 7 bis 8 oder mehr Vertiefungen (wie bei den hohlgeschliffenen Objectträgern) eingeschliffen sind. In jede der Vertiefungen kommt eine kleine abgemessene Quantität geschmolzener Gelatine. Die Gelatine in einer der Vertiefungen wird dann mit dem in das Ausgangsmaterial getauchten Platindraht inficirt, und die weiteren Verdünnungen werden dann durch Uebertragung von Material immer aus einer Vertiefung in die nächstfolgende bewerkstelligt. (Nach jeder einzelnen Uebertragung muss der Platindraht ausgeglüht werden.) Die Gelatine lässt man dann erstarren. Man hat so auf einer Platte alle Verdünnungen und hat sehr an Material gespart.

Diesem sehr zweckmässigen Soyka'schen Verfahren schliesst sich ein Verfahren an, welches der Verf. zur Reincultivirung, zur Isolirung von Bakterien häufig benutzt, und welches ebenfalls darauf gerichtet ist, Gelatine zu sparen resp. einen möglichst geringen Apparat für den einzelnen Versuch nothwendig zu haben. Ich bringe mir zunächst auf eine sterile Glasfläche (einen stark erhitzten und wieder erkalteten Objectträger oder die Innenfläche des Deckels eines sterilisirten Petri'schen Schälchens, welches nachher für die Plattencultur zur Verwendung kommen soll) 4—5 einzelne, isolirt liegende Tropfen steriler Bouillon oder sterilen Wassers, inficire dann den ersten Tropfen mittels des Platindrahtes mit dem zu untersuchenden Materiale, glühe den Draht aus, tauche ihn nach dem Erkalten in den ersten Tropfen wieder ein und übertrage die kleine anhaftende Menge in den zweiten Tropfen. Von diesem aus inficire ich (mit vorher ausgeglühtem Drahte) auf dieselbe Weise den dritten, von diesem den vierten, und ebenso auch eventuell einen fünften Tropfen je nach dem Bakterienreichthum des Ausgangsmateriales. Von dem letzten Tropfen übertrage ich dann eine Oese in ein Röhrchen geschmolzener Nährgelatine und giesse die letztere dann, wie oben (p. 128) beschrieben, in ein Petri'sches Schälchen aus. Habe ich die Innenfläche des Deckels des Schälchens zur Anlage der Verdünnungen benutzt, so hat derselbe während dieser Zeit umgekehrt auf dem Schälchen gelegen und so das Schälchen vor dem etwaigen Hineingelangen von Luftkeimen behütet. Die während der Entwickelung der Cultur an dem Deckel hängenden Tropfen schaden der Cultur natürlich durchaus nichts.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1888. No. 43.

Anstatt der Gelatine kann man auch Agar zu Plattenculturen benutzen; und bei Organismen, welche erheblich besser und schneller bei Brüttemperatur wachsen als bei Zimmertemperatur, wird man mit Vorliebe zu dem Agar greifen. Nur ist hier ein besonders geschwindes Operiren durchaus geboten. Wie wir oben (p. 116) bereits erwähnten, schmilzt das Nähragar erst bei Temperaturen, die der Siedetemperatur des Wassers nahe liegen. Geschmolzen muss aber jeder Nährboden werden, mit welchem wir eine Platte anlegen wollen. Nach dem Schmelzen wird das Agar abgekühlt bis etwas über 40° C. Man stellt das Röhrchen zu dem Zwecke am besten in ein entsprechend warmes Wasserbad ein. Bei dieser Temperatur ist das Agar gerade noch flüssig und doch schon kühl genug, dass man Bakterien ohne Gefahr für ihre weitere Entwickelungsfähigkeit einsäen kann. Nun muss man möglichst schnell das Material eintragen, vertheilen und dann die Verdünnungen machen, um hinterher den Nährboden gleich in Petri'sche Schälchen [1]) auszugiessen. Diese Schälchen werden in eine feuchte Kammer (p. 122) und mit dieser in den Brütschrank gestellt.

Will man das Agar zu Rollplatten (cf. oben p. 139) verwenden, die in den Brütschrank gestellt werden sollen, so darf man nicht das gewöhnliche $1^1/_2$procentige, sondern muss 2procentiges (cf. oben p. 116) Agar verwenden, weil nur bei dieser Concentration die Agarschicht auch bei längerem Aufenthalt im Brütschrank an den Wandungen des Glases sicher haftet (C. Fränkel [2])). v. Esmarch [3]) setzt zur Verhütung der Ablösung der Agarschicht dem $1^1/_2$proc. Agar mehrere Tropfen einer sterilisirten dicken Lösung von Gummi arabicum zu.

Auch für Agarplatten hat sich mir meine, der Soyka'schen nachgebildete Verdünnungsmethode bewährt.

Eine Methode, Blutserum für Plattenculturen zu verwenden, hat Hueppe [4]) angegeben. Das flüssige, steril aufgefangene

---

[1]) Giesst man des inficirte Agar auf gewöhnliche Koch'sche Platten aus, so dürfen diese Platten nicht wie bei der Anlage von Gelatineplatten möglichst stark abgekühlt (cf. p. 127) sein, sondern die Spiegelplatte des Giessapparates muss für diesen Zweck sogar durch lauwarmes Wasser etwas angewärmt sein. Je schneller nämlich das Agar auf den Platten erstarrt, desto weniger gut haftet es am Glase. Auf die so angewärmten Platten trägt man vor dem Aufgiessen des Agars zweckmässig noch je mehrere Tropfen Siegellack auf, welche das Abgleiten der Agarschicht vom Glase nach der Erstarrung verhüten.

[2]) Centralbl. f. Bakter. Bd. 3. 1888. p. 767.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 301.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. p. 610.

oder (im flüssigen Zustande) sterilisirte (cf. p. 119) Blutserum wird auf c. 40° C. erwärmt und mit dem zu untersuchenden Bakterienmateriale beschickt, welches gleichmässig darin vertheilt wird. Event. werden von dem so hergestellten Originalröhrchen Verdünnungen (wie bei der Gelatineplattencultur, p. 127) hergestellt. Inzwischen ist 2procentiges Nähragar geschmolzen und auf 42° C. wieder abgekühlt worden. Das inficirte Serum wird nun mit etwa der gleichen Quantität Agar sorgfältig vermischt; das Gemisch wird in Schälchen ausgegossen, in welchen es erstarrt, und die dann in den Brütschrank kommen.

Ehe Koch seine Plattenmethode erfand, benutzte er die Nährgelatine in etwas anderer Weise zur Isolirung der Keime. Er inficirte nämlich den Platindraht und strich denselben dann mit der Spitze über die Oberfläche von Nährgelatine, welche auf einem sterilisirten Objectträger in dünner Schicht ausgegossen war. Neben einander wurden so eine Anzahl „Impfstriche“ gemacht. Die Mehrzahl der dem Draht anhaftenden Keime blieb natürlich schon beim ersten Striche an der Gelatine hängen, der zweite Strich erhielt schon weniger Keime; und bald kam bei den nächstfolgenden Strichen ein Zeitpunkt, wo nur hier und da ein einzelner Keim sitzen blieb. Die Objectträger wurden dann in die feuchte Kammer gestellt. Mit Hülfe dieser „Objectträgerculturen“ erzielte Koch die ersten isolirten Reinculturen aus Bakteriengemischen.[1]) Eine Plattencultur, welche nach dem genannten Principe angelegt wurde, zeigt Taf. V, Fig. 30 (cf. oben p. 133). Dieses Princip der Isolirung von Keimen durch Anlegung einer Reihe von Oberflächen-Strichculturen wendet man in der bakteriologischen Praxis sehr häufig — wenn auch in einer von der Objectträgermethode abweichenden Form — an, und zwar zum Zwecke der Isolirung pathogener Keime aus Material, welches direct aus dem erkrankten Körper stammt. Der mit dem Originalmaterial (Blut, Eiter, diphtherische Pseudomembran etc.) inficirte Platindraht wird hinter einander auf der Oberfläche des (schräg erstarrten [p. 118]) Nährbodens von 4 bis 6 bis 8 Reagenzröhrchen (Agar, Glycerinagar, Blutserum etc.) ausgestrichen. Die inficirten Röhrchen kommen in den Brütschrank. In den letzten Röhrchen kommen isolirte Colonien zur Entwickelung.

Will man Bakterienculturen conserviren, so geht man gewöhnlich so vor, dass man, sobald das Wachsthum eine gewisse Höhe erreicht hat, die Culturgefässe gegen die Atmosphäre luftdicht abschliesst. Das letztere geschieht entweder durch sorgfältiges Ver-

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 25—27.

kitten der Deckel etc. mit Paraffin oder durch Zuschmelzen der Oeffnungen der Gefässe. Das Zuschmelzen lässt sich aber gewöhnlich nur bei Reagenzglasculturen bewerkstelligen. Durch den luftdichten Verschluss des Culturgefässes wird eine Verdunstung der in dem Nährboden enthaltenen Feuchtigkeit sowie die Möglichkeit der Verunreinigung dauernd ausgeschlossen. Ausserdem wird der weiteren Entwickelung der Cultur durch den luftdichten Abschluss meist bald ein Ziel gesetzt (Abschluss von Sauerstoff). Um den Ausbau der hierher gehörigen Conservirungsmethoden haben sich besonders verdient gemacht Soyka[1]), Soyka und Král[2]), Král[3]), Czaplewski.[4]) Man kann sich nach diesen Methoden sehr schöne Sammlungen bakteriologischer Culturen anlegen („bakteriologische Museen"). Die Culturen behalten unter luftdichtem Verschluss sehr lange Zeit ihre Uebertragbarkeit bei.

Man hat auch versucht, Culturen in festem Nährboden in Form des mikroskopischen Präparates zu conserviren. Handelt es sich um Plattenculturen, so muss die zu conservirende Stelle mit dem Messer umschnitten und dann zwischen Objectträger und Deckglas (in Glycerin z. B.) eingeschlossen werden. Derartige Methoden haben Garrè[5]), Plaut[6]), Lipez[7]), Jacobi[8]) sowie der Verf.[9]) angegeben. Handelt es sich um Reagenzglasculturen, so muss die die Cultur enthaltende Gelatine zunächst gehärtet und dann in Schnitte zerlegt werden. Solche Methoden haben Fischl[10]) und Neisser[11]) publicirt.

Die bisher besprochenen Culturmethoden, speciell die Plattenmethode, gehen von der Voraussetzung aus, dass wir solche Organismen zu untersuchen haben, welche an der Luft zu wachsen vermögen. Wir haben nun früher bereits (p. 21) gesehen, dass es eine grosse Reihe von Bakterienarten giebt, denen dies Vermögen abgeht, die im Gegentheil durch die Gegenwart freien Sauerstoffs in ihrer Entwickelung gehemmt werden. Es sind dies die sogenannten Anaëroben (auch „obligate", „strenge" Anaëroben genannt). Haben wir solche Organismen zu züchten, so kann dies natürlich nicht in der gewöhn-

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 18.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.
[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1889.
[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 15.
[5]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 12.
[6]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 13.
[7]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 13.
[8]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 17.
[9]) Deutsche med. Woch. 1889. No. 20.
[10]) Fortschr. d. Med. 1887. No. 20.
[11]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 16.

lichen Weise auf der Platte geschehen; denn der atmosphärische Sauerstoff, welcher zu der Platte ungehinderten Zutritt hat, würde ein jedes Wachsthum von vornherein inhibiren. Will man derartige Organismen zum Wachsthum, zur Vermehrung bringen, so muss man den atmosphärischen Sauerstoff von dem Orte, an dem das Wachsthum geschehen soll, sorgfältigst fernhalten.

Nach verschiedenen Principien kann dies geschehen. Man kann, nach Gruber[1]), den inficirten Nährboden in einen Raum bringen, der nachher luftleer gepumpt wird; oder man kann, nach Buchner[2]), aus dem Raume, in welchem der inficirte Nährboden resp. das Culturgefäss (z. B. eine nach Esmarch angelegte Rollplatte) steht, den Luftsauerstoff fortschaffen durch alkalische Lösung von Pyrogallol (1 g Pyrogallol, 1 ccm Liqu. Kal. caust., 10 ccm Wasser), welche bekanntlich ein ausserordentlich sauerstoffgieriges Medium ist.[3]) Man kann aber den Luftsauerstoff resp. die atmosphärische Luft auch entfernen, indem man in den den Nährboden umgebenden Raum genügend lange Zeit reinen Wasserstoff[4]) einleitet, indem man eventuell sogar durch den Nährboden selbst (bei Gelatine vor der Erstarrung) Wasserstoff durchleitet. Wird nachher ein sicherer Verschluss

---

1) Gruber (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 12) benutzt zu diesem Zwecke lange, im oberen Drittel verengte Reagenzgläser, welche — nach der Beschickung der in ihnen befindlichen Nährgelatine mit dem Bakterienmaterial — mit der Luftpumpe in Verbindung gesetzt und nach dem Evacuiren an der verengten Stelle luftdicht abgeschmolzen werden. Dann wird die Gelatine in ihnen nach der Esmarch'schen Methode (oben p. 139) ausgerollt.

2) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 5.

3) Diese vortreffliche Buchner'sche Methode ist später von Nikiforoff (Zeitschr.. f. Hyg. Bd. 8. 1890) zur Cultivirung der Anaëroben im hängenden Tropfen verwendet worden. Nikiforoff umstreicht die Höhlung des hohlgeschliffenen Objectträgers wie gewöhnlich (cf. oben p. 49) mit Vaselin und drückt dann das mit dem geimpften (inficirten) Tropfen versehene Deckglas (cf. oben p. 138) so auf diesen Objectträger, dass die Höhlung des letzteren an einer Stelle nicht völlig vom Deckglase verschlossen wird. Diese freigelassene Stelle wird nun an ihrem einen Ende mit starker wässeriger Pyrogallollösung (mit Hülfe einer Platinöse) betupft, während an das andere Ende ein Tröpfchen Kalilauge gebracht wird. Sodann wird durch Verschiebung des Deckgläschens die Höhlung des Objectträgers völlig verschlossen. Es mischen sich dann die beiden Reagentien mit einander; sie bleiben an der Berührungsstelle von Objectträger und Deckglas hängen, kommen mit dem Culturtropfen nicht in Berührung.

4) Der aus „reinem" Zink und „reiner" Schwefel- oder Salzsäure bereitete Wasserstoff wird (nach C. Fränkel; Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. p. 768) behufs der Reinigung von eventuellen Verunreinigungen am besten durch 3 Waschflaschen geleitet, welche der Reihe nach enthalten 1) alkalische Bleilösung (zur Absorption etwaiger Schwefelwasserstoffspuren), 2) Silbernitratlösung (zur Absorption etwaigen Arsenwasserstoffs), 3) alkalische Pyrogallollösung (zur Absorption etwaigen Sauerstoffs).

nach aussen hin hergestellt (durch Zuschmelzen der Glasgefässe, durch Verkitten der Oeffnungen mit Paraffin), so gedeihen die Anaëroben in ausgezeichneter Weise in dieser Wasserstoffatmosphäre. [1])

Es ist an dieser Stelle darauf hinzuweisen, dass man nicht etwa Kohlensäure zur Verdrängung des Luftsauerstoffs benutzen darf. Es hat sich, besonders durch umfassende Untersuchungen, die C. Fraenkel [2]) angestellt hat, gezeigt, dass die Kohlensäure, wie für andere Organismen, so auch für die Bakterien ganz allgemein ein Gift ist, und dies sowohl für Aëroben wie Anaëroben. Der Wasserstoff ist jedoch, wie für andere Organismen, so auch für die Bakterien ein völlig indifferentes Gas.

Von Plattenculturen kann man den Luftsauerstoff nach Koch [3]) dadurch fernhalten, dass man auf die Gelatine etc. ein dünnes Glimmerplättchen, welches vorher durch Ausglühen sterilisirt wurde, auflegt. Dasselbe muss natürlich eine grössere Ausdehnung besitzen. Unter demselben kommen die Anaëroben zur Entwickelung. Das geschilderte Verfahren lässt sich auch sehr gut zur Prüfung des Sauerstoffbedürfnisses bestimmter neu aufgefundener Arten benutzen.

---

[1]) Bezüglich der vielfachen hierfür angegebenen Methoden, um deren ersten Ausbau sich namentlich H. und E. Buchner, Hauser, Liborius, Roux (1885 bis 1887) verdient gemacht haben, verweise ich im Allgemeinen auf Hueppe's „Methoden der Bakterienforschung“, 5. Aufl. 1891. p. 361 ff. — Kitasato (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 227) gab zur Anlegung von Plattenculturen flache Glasgefässe an, durch welche Wasserstoff hindurch geleitet wird, und die dann luftdicht zugeschmolzen werden. — Gabritschewsky (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 249) hat (sehr empfehlenswerthe) Culturschalen für Wasserstoffdurchleitung und gleichzeitige Sauerstoffabsorption durch Pyrogallol angegeben, bei welchen eine Zuschmelzung nicht vorgenommen zu werden braucht. — Aehnliche Schälchen, bei denen aber nur Wasserstoffdurchleitung, nicht Pyrogallol zur Verwendung gelangt, hat Kamen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 9) beschrieben. — Eine höchst einfache Methode der Wasserstoffbenutzung hat Fuchs (Dissert. Greifswald. 1890) angegeben. Siehe hierüber Loeffler (Centr. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 20. p. 635): „Die Methode besteht darin, dass das besäete Röhrchen umgedreht, und nachdem einige Minuten hindurch Wasserstoff mit einem Glasrohr eingeleitet worden ist, mit einem Gummistopfen von unten her fest verschlossen wird. Der Gummistopfen kann zur Vorsicht noch paraffinirt werden.“ — Blücher (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890) cultivirt Anaëroben auf der Platte (Potri'sches Schälchen), auf Kartoffeln etc. unter einer Glasglocke, in welche Wasserstoff eingeleitet wird, und deren Inneres durch eine wässerige Glycerinlösung (1 Glycerin + 3 bis 4 Wasser) gegen die äussere Luft abgesperrt wird. — Botkin (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890) hat ein ähnliches Verfahren angegeben, bei welchem Paraffinum liquidum als Absperrflüssigkeit verwandt wird.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 502.

Sehr bequem zur Züchtung der Anaëroben, wenn auch zur Isolirung der Keime aus einem Gemische weniger brauchbar, ist eine andere Methode, bei welcher der Sauerstoff der atmosphärischen Luft von der Cultur durch darübergeschichtetes festes Nährsubstrat abgeschlossen wird.[1]) Nach diesem einfachen Principe kann man z. B. aus Reinculturen von Anaëroben Stichculturen in jedem Gelatineröhrchen anlegen. Man sticht das Material in der gewöhnlichen Weise mit dem Platindraht tief in die Gelatine ein und sieht nachher in den tieferen Schichten der Gelatine, zu denen der atmosphärische Sauerstoff keinen Zutritt hat, bis etwa $1^1/_2$ cm von der Gelatineoberfläche entfernt, von dem Impfstiche das Wachsthum der anaëroben Cultur ausgehen, während in den oberen Schichten der Gelatine, die mit dem atmosphärischen Sauerstoff in Berührung sind, jedes Wachsthum unterbleibt. Man kann auch das Bakterienmaterial in geschmolzener Gelatine vertheilen und die Gelatine dann wieder erstarren lassen. Man beobachtet dann in den unteren Partien der Gelatine die Entwickelung mehr oder weniger von einander isolirter Colonien. Ein solche Cultur zeigt z. B. Fig. 38 auf Taf. VII.

Es empfiehlt sich zur Cultur anaërober Organismen den Nährböden gewisse reducirende Substanzen zuzusetzen. Das Wachsthum erfolgt dann schneller. Liborius[2]) fand einen Zusatz von 2% Traubenzucker zu der Nährgelatine wachsthumsbeschleunigend; Kitasato und Weyl[3]) haben später für den gleichen Zweck einen Zusatz von 0,3—0,5% ameisensaurem Natron zu Nähragar empfohlen.

Die Culturen der Bakterien, aërober sowohl wie anaërober, können nun, mag es sich um Platten- oder Reagenzglasculturen oder um Kartoffelculturen in der feuchten Kammer handeln, bei den verschiedensten Temperaturen gezüchtet werden. Die gebräuchlichsten sind die Zimmertemperatur (18—22° C.) und die Brüt- (Blut-) Temperatur (c. 35—38° C.). Gelatineculturen eignen sich natürlich nicht zur Züchtung bei Brüttemperatur, da die Gelatine schon bei 25° C. sehr weich und bei wenig höherer Temperatur flüssig wird. Bei 22° C. kann man dagegen die Gelatineculturen noch sehr gut halten. Und bei dieser Temperatur zeigen auch fast alle diejenigen Organismen, die am besten bei Brüttemperatur gedeihen, d. h. die für

---

[1]) Diese Methode wurde zuerst von W. und R. Hesse (Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 14) angegeben, dann von Liborius (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 119 ff.) weiter ausgebildet.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 168.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 43.

Warmblüter pathogenen, noch Wachsthum. Für Züchtungen bei Brüttemperatur nimmt man Agar, Bouillon, Blutserum, Kartoffeln etc. Die Nährböden kommen hierbei am besten in Reagenzröhrchen resp. in Petri'schen Schälchen (bei Agarplatten) eingeschlossen zur Verwendung; denn irgend welche Verunreinigungen der Cultur machen sich bei Brüttemperatur gleich in viel ausgedehnterem Masse geltend als bei Zimmertemperatur, und die genannten Dispositionen schützen die Nährböden am besten vor Verunreinigungen. Ist das Wachsthum der zu züchtenden Art ein sehr langsames, so ist ein langer Aufenthalt in dem künstlich auf Brüttemperatur erwärmten Raume (Brütschrank, Brütofen) nothwendig, und dabei trocknen dann die Nährböden gewöhnlich ziemlich schnell ein. Besonders ihre Oberfläche wird dann bald so wasserarm, dass sie das Bakterienwachsthum nicht mehr gestattet. Man muss in solchen Fällen die Züchtung in Reagenzgläsern vornehmen und von vornherein für einen luftdichten Verschluss derselben sorgen. Nothwendig wird dies z. B. bei der künstlichen Züchtung der Tuberkelbacillen auf Blutserum, auf Glycerinagar. Man überzieht dann die Oeffnung des Reagenzglases, nachdem man den Wattepfropf tief hineingestossen hat, mit einer Gummikappe. Würde man dies aber ohne besondere Vorsichtsmassregeln thun, so würden sich die an dem Wattepfropf aussen aufsitzenden, aus der Luft stammenden Keime in der geschaffenen feuchten Kammer baldigst zu entwickeln beginnen, und es würden nun namentlich die Pilzmycelien die Poren des Pfropfs durchwuchern und die Cultur, deren Züchtung wir beabsichtigten, verderben resp. gar nicht zu Stande kommen lassen. Deshalb geht man in solchen Fällen so vor, dass man den mit der Pincette gefassten Wattepfropf zunächst äusserlich in der Flamme abbrennt, um alle anhaftenden Keime zu vernichten, dann ihn in den erhitzten Hals des Röhrchens hineinschiebt und schliesslich eine Gummikappe überzieht, welche stundenlang in Sublimatlösung gelegen hat.

Der Brütschrank, dessen man sich zu Culturzwecken bedient, (Brütofen, Wärmeschrank, Vegetationskasten, Thermostat) kann verschieden construirt sein. Wesentlich ist ein abgeschlossener, gegen Wärmeabgabe nach aussen möglichst gesicherter Raum, dessen Inneres auf constanter Temperatur erhalten wird. Meist sind für diesen Zweck doppelwandige, aussen mit Filz oder Asbest bekleidete Kästen von starkem Kupferblech[1]) in Gebrauch, die mit

[1]) Die früher gebräuchlichen Brütschränke aus verbleitem Eisenblech sind nicht zu empfehlen. Sie rosten sehr leicht und erfordern dann fortwährend Reparaturen.

einer vorn angebrachten Doppelthür versehen sind. Zwischen den beiden Wandungen des Kastens befindet sich Wasser, in welchem auf der einen Seite ein aussen ablesbares Thermometer, auf der anderen ein (noch zu besprechender) Thermoregulator steht. Der ganze Kasten steht auf einem Vierfussgestell und wird erwärmt durch eine besondere Sicherheits-(Gas-)Lampe, zu der das Gas durch den Thermoregulator hindurch gelangt. Die Lampe ist so eingerichtet, dass bei zufälligem Verlöschen der Flamme (durch vorübergehendes Absperren der Leitung etc.) der Hahn automatisch geschlossen wird.

Man hat auch Brütschränke construirt, in welche das Mikroskopstativ so eingesetzt werden kann, dass der Objecttisch und seine Umgebung, speciell das auf dem Objecttisch befindliche Präparat mit dem (lebenden) bei Brüttemperatur zu beobachtenden Object, innerhalb des Brütraumes, das Ocularende des Tubus aber, ferner die Mikrometerschraube ausserhalb des Brütraumes befindlich sind. Solche Brütapparate gestatten die continuirliche Beobachtung lebender Objecte, z. B. Culturen im hängenden Tropfen (cf. oben p. 138) etc., bei Brüttemperatur. Unter den für derartige Zwecke angegebenen Vorrichtungen möchte ich speciell die von Friedrich[1]) empfehlen.

Der Thermoregulator kann nach verschiedenen Principien construirt sein. Am zuverlässigsten sind und am genauesten wirken die electrischen Thermoregulatoren. Bei diesen steht innerhalb des Wassermantels des Thermostaten ein sogenanntes Contactthermometer, d. h. ein Quecksilberthermometer, dessen Quecksilbersäule bei der Erreichung einer bestimmten, beliebig einstellbaren Temperatur mit einem Platindraht in Contact tritt. Dadurch wird dann ein galvanischer Strom geschlossen, welcher seinerseits einen Electromagneten in Thätigkeit setzt, der die Gaszufuhr zur Heizflamme des Thermostaten absperrt oder vielmehr auf ein Minimum reducirt. Wenn dann der Wassermantel sich wieder unter die genannte Temperatur abgekühlt hat, so wird der Contact aufgehoben, der Electromagnet tritt ausser Thätigkeit, die Heizflamme erlangt ihre frühere Grösse u. s. f. Mit Hülfe der electrischen Thermoregulatoren kann man die Brütschranktemperaturen bis auf Zehntel Grade genau einstellen.

Weniger strengen Anforderungen, aber immerhin den meisten Bedürfnissen des bakteriologischen Laboratoriums, genügen die, im Principe von Bunsen und Lothar Meyer stammenden, Thermoregulatoren, bei welchen der Gaszufluss zur Heizflamme bei Erreichung

---

[1]) Die Friedrich'sche „Heizvorrichtung des Mikroskopes zu bakteriologischen Untersuchungen" (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 8. 1892) ist von G. König. Berlin N.W., Dorotheenstr. 29, angefertigt und von dieser Firma zu beziehen.

der gewünschten Temperatur durch Quecksilber abgesperrt wird. Diese Regulatoren sind — im Gegensatz zu den electrischen — vom Gasdruck abhängig: sie lassen bei höherem Gasdruck mehr Leuchtgas durch als bei niedrigerem. Ganz besonders möchte ich das von H. Rohrbeck[1]) verfertigte Modell empfehlen. Dasselbe besteht aus einem starkwandigen, c. 14 mm weiten, c. 34 cm langen, vertikal stehenden Glasrohr, welches unten geschlossen und in der Mitte durch eine horizontale gläserne Scheidewand abgetheilt ist, die central eine enge, nach unten sich in ein offenes Glasrohr fortsetzende Oeffnung besitzt. Der Raum unterhalb der Scheidewand ist beinahe vollständig mit Quecksilber angefüllt, welches durch das erwähnte Glasrohr in den oberen Raum gelangen kann. Auf dem unteren Quecksilberhorizont schwimmen mehrere Tropfen Aether. Der ganze Apparat steht in dem auf bestimmte Temperatur zu erwärmenden Wassermantel des Thermostaten. Je mehr nun durch die Flamme das Wasser erhitzt wird, desto mehr dehnen sich die Aetherdämpfe aus; dabei wird das Quecksilber mehr und mehr aus dem unteren Raume in den oberen Raum hinaufgedrückt. Das Leuchtgas tritt nun in den oberen Raum hinein durch ein vertikal stehendes, dünnes, eisernes, in einer Stopfbüchse verschiebbares Rohr, welches (in verstellbarer Höhe) über dem oberen Quecksilberhorizonte mündet. Es tritt aus, um zu der Flamme zu gelangen, seitlich neben dem eisernen Rohre aus der Wand des Thermostaten. Erreicht nun mit zunehmender Erwärmung das obere Quecksilberniveau das Ende des eisernen Rohres, so wird die Oeffnung desselben verschlossen, und die Flamme würde sofort verlöschen, wenn nicht ein feiner vertikaler Schlitz in dem Rohre noch ein wenig Gas durchtreten liesse. Die Flamme wird also nur erheblich reducirt. Hat sich dann das Wasser wieder etwas abgekühlt, so tritt das Quecksilber wieder zurück, lässt das Gas wieder voll ausströmen u. s. f. Da das eiserne Rohr verstellbar ist, so kann man den Apparat auf beliebige Temperaturen (natürlich in gewissen Grenzen) einstellen, die dann constant[2]) bleiben.

Hat man keine Gasleitung und keinen Thermoregulator zur Verfügung, so kann man seinen Brütapparat sehr gut mit einer Petroleumlampe heizen. Koch[3]), welcher bei seinen ersten, grundlegenden Untersuchungen über Milzbrand sich dieser Methode bediente, empfiehlt dieselbe auf das Wärmste.

---

[1]) Berlin N.W., Karlstr. 24.

[2]) Die Temperaturschwankungen betragen bei Anwendung des beschriebenen Regulators im Allgemeinen nicht über 0,5° C.

[3]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 282.

4. Anhang: Die Methoden der bakteriologischen Luft-, Wasser- und Boden-Untersuchung und ihre wichtigsten Ergebnisse.

a. Luftuntersuchung.

In der uns umgebenden Luft finden wir stets Keime von Mikroorganismen. Es finden sich da sowohl Bakterienkeime wie Keime von Schimmelpilzen und von Hefen. Dieselben gelangen dadurch in die Luft, dass sie von dem Substrate, auf welchem sie sich entwickelt haben, durch Luftströmungen entfernt werden. Natürlich kann dies nur geschehen, wenn die Cultur eingetrocknet ist. So lange der Nährboden und die Cultur feucht sind, ist gewöhnlich keine Möglichkeit vorhanden, dass sich Theilchen der Cultur in die Luft erheben. Die geringen Lebensansprüche vieler Bakterienarten bringen es nun mit sich, dass allenthalben in der Natur, wo etwas Feuchtigkeit vorhanden ist, Bakterien zu wachsen vermögen. Vertrocknet eine Bakteriencolonie, wird sie durch zufällige Berührungen zerkleinert, in Staub verwandelt, so genügt der geringste Luftstrom, die Stäubchen davonzuführen, um sie an irgend welchem anderen Orte abzusetzen.

Die für die Untersuchung der Luft auf Bakterien angegebenen Methoden sind sehr zahlreich. Will man nur qualitative Aufschlüsse über die Keime haben, kommt es Einem nur darauf an, zu ermitteln, welchen Arten die in einer bestimmten Luft enthaltenen Keime angehören, so empfiehlt sich die zuerst von Koch[1]) geübte „Absitzmethode". Man bedeckt den Boden eines sterilisirten Glasschälchens mit geschmolzener Nährgelatine und lässt nach der Erstarrung der Gelatine das Schälchen offen an dem Orte stehen, dessen Luft man untersuchen will. Die Keime setzen sich dann auf der Gelatineoberfläche ab. Nach bestimmter Zeit wird dann das Schälchen geschlossen, und die Keime müssen sich nun oberflächlich auf der Gelatine entwickeln, sobald sie überhaupt fähig sind, auf diesem Nährboden und in Gegenwart des Luftsauerstoffs zu wachsen. Koch setzte die Schälchen auf den Grund eines cylinderförmigen Glasgefässes und mit diesem erst der Luft aus. Die Luft innerhalb des Cylinders ist von den äusseren Luftströmungen mehr oder weniger unabhängig, und so konnten wenigstens einigermassen auch quantitativ vergleichbare Resultate zwischen den an verschiedenen Orten ausgeführten Untersuchungen erhalten werden. Als Nährboden zeigte sich Weizeninfusgelatine am zweckmässigsten.

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881. p. 33.

Eine Methode, welche bezüglich der Quantität der in einem bestimmten Luftvolumen enthaltenen Keime erheblich mehr leistete, wurde dann von Hesse[1]) erfunden. Hesse saugt vermittels eines Aspirators das zu untersuchende Luftquantum durch ein horizontal liegendes, ca. 70 cm langes, 3,5 cm weites Glasrohr, dessen Innenwand mit Nährgelatine ausgekleidet ist. Die Keime setzen sich dabei aus der Luft auf der Gelatine ab. Naturgemäss muss die Geschwindigkeit des Luftstromes sich in gewissen Grenzen halten, weil sonst Keime aus der Röhre wieder austreten könnten, ohne sich auf der Gelatine abgesetzt zu haben.

Ein bequemeres und leistungsfähigeres Verfahren der quantitativen Luftuntersuchung auf Mikroorganismenkeime wurde dann von Petri[2]) ausgearbeitet. Das Verfahren ist wohl das beste der überhaupt existirenden. Petri saugt die Luft mit Hülfe einer Handluftpumpe, die einen in ihrem Volumen geaichten Kolben besitzt und durch eine Kurbel in Bewegung gesetzt wird, durch ein Sandfilter, in welchem die Keime zurückgehalten werden. Das mit den Keimen beladene Filter wird in ein „Petri'sches Schälchen" (cf. oben p. 138) gebracht, der Sand wird dann mit geschmolzener Nährgelatine vermischt und gründlich darin vertheilt. Die sich nach dem Erstarren der Gelatine entwickelnden Colonien können dann gezählt und weiter untersucht werden. Der Sand hat eine Korngrösse von 0,25—0,5 mm und wird vor der Verwendung ausgeglüht. Derselbe wird in zwei durch kleine Drahtnetze gestützten Schichten von je 3 cm Länge und 1,5—1,8 cm Durchmesser in ein 8—9 cm langes Glasrohr eingebracht und in dieser Anordnung zum Filtriren der Luft verwendet. Nicht mehr als 5—10 Liter Luft pro Minute werden durch das Filter gesaugt, so dass die Geschwindigkeit des Luftstromes im Filter 0,7 m pro Secunde nicht übersteigt. Bei den einzelnen Bestimmungen werden 50—100 Liter Luft zur Untersuchung filtrirt.

Petri hat bei den zahlreichen Luftuntersuchungen, die er nach seiner Methode anstellte, und bei denen er stets Controluntersuchungen nach der Absitzmethode unternahm, gefunden, dass bei der Filtrirmethode relativ mehr Pilzsporen, bei der Absitzmethode relativ mehr Bakterienkeime gefunden werden. Jedenfalls ist hierfür das verschiedene specifische Gewicht der Keime verantwortlich zu machen. Die Pilzsporen sind nämlich sehr leicht, die bakterientragenden Stäubchen specifisch viel schwerer; die letzteren werden sich also leichter zu

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 5—6. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

Boden senken als die ersteren. Ein weiterer interessanter Befund, der sich aus den Petri'schen Versuchen ergeben hat, ist der, dass die an einem und demselben Stäubchen anklebenden Bakterienkeime relativ selten verschiedenen Arten zugehören. Mehr als drei Species entwickelten sich niemals an der Absatzstelle eines einzelnen Luftstäubchens.

In Frankreich bedient man sich für Luftuntersuchungen immer noch des (früher allgemein üblichen) flüssigen Nährbodens. Miquel, welcher im Observatorium des Montsouris zu Paris fortlaufende Luftuntersuchungen anstellt, saugt den Luftstrom durch sterilisirtes Wasser und vertheilt nachher das mit den Keimen beladene Wasser zu gleichen Portionen in eine grössere Anzahl von Gefässen mit steriler Bouillon. Von diesen muss dann mindestens ein Drittel ohne Entwickelung von Organismen bleiben, d. h. sich als keimfrei herausstellen. Man darf dann annehmen, dass in den Gefässen, in denen Entwickelung zu Stande kommt, diese nur von einem einzigen Keime ausging, und hat damit die Anzahl der in der durchgesaugten Menge Luft enthalten gewesenen Keime.

Die Mikroorganismen, welche bei Luftuntersuchungen gefunden werden, sind erstens die verschiedenartigsten Schimmelpilze, ferner eine Anzahl Hefen, endlich Bakterien.[1]) Die Mehrzahl der Bakterienkeime gehört den Mikrococcen an; speciell finden sich ganz regelmässig eine Anzahl Sarcinearten. Die Colonien verflüssigen ihrer grossen Mehrzahl nach die Gelatine nicht. Viele chromogene Arten finden sich. Die meisten Keime gehören saprophytischen Arten an; es sind aber hier und da auch pathogene Keime gefunden worden.

Im Allgemeinen zeigen die auf den Luftplatten sich entwickelnden Bakteriencolonien ein sehr langsames Wachsthum, offenbar aus dem Grunde, weil die an den Luftstäubchen angetrockneten Bakterienzellen, aus denen die Colonien hervorgehen, gewöhnlich bereits längere Zeit der Lebensthätigkeit entzogen waren und die zu einer kräftigen Vermehrung nothwendige Energie erst wieder gewinnen müssen.

Je mehr Staub in der Luft enthalten ist, desto mehr Keime findet man bei der Untersuchung. „Die Zahl der in der freien Atmosphäre gefundenen Keime schwankt zwischen 100—500—1000 pro 1 cbm" (Flügge[2])). Fast keimfrei oder auch vollständig keimfrei

---

[1]) Welz (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1891) hat eine grössere Reihe von Mikroorganismenarten, die er in der Luft (in Freiburg) fand, übersichtlich, in Tabellenform, beschrieben.

[2]) Grundriss d. Hygiene. Leipzig. 1889. p. 163.

hat sich die Luft draussen auf hoher See in weiter Entfernung vom Lande erwiesen. Auch auf den Spitzen schneebedeckter Berge ist die Luft sehr arm an Keimen.

b. Wasseruntersuchung.

Um den Bakteriengehalt eines bestimmten Wassers festzustellen, verfährt man nach Koch's[1]) ursprünglichem Vorgang so, dass man eine bestimmte Menge des Wassers (gewöhnlich nimmt man 1 ccm oder $^1/_2$ ccm oder auch [zur gegenseitigen Controle der Versuche] beides) mit sterilisirter Pipette in ein Röhrchen mit geschmolzener Nährgelatine[2]) vertheilt und die Gelatine dann auf eine sterile Platte[3]) ausgiesst. Nach dem Erstarren der Gelatine entwickeln sich dann die eingesäeten Keime in isolirten Colonien, deren Anzahl in der weiterhin zu besprechenden Weise festgestellt werden kann. Ist das zu untersuchende Wasser ausserordentlich reich an entwickelungsfähigen Keimen, so ist es zur Erzielung brauchbarer Culturplatten nothwendig, dasselbe auf das 10 bis 20fache Volumen mit sterilisirtem Wasser zu verdünnen.

Die Feststellung der Anzahl der auf der Platte zur Entwickelung gekommenen Colonien geschieht am besten mit Hülfe eines zu diesem Zwecke (von Wolffhügel) construirten Zählapparates. Der letztere besteht aus einer horizontalen schwarzen Tafel, auf welche die Platte oder das Schälchen aufgelegt wird. In einiger Entfernung darüber wird eine Glasscheibe gelegt, in welche ein Gitterwerk von gleich grossen Quadraten mit dem Diamanten eingerissen ist. Auf dieser Platte steht eine dreibeinige Loupe, durch die hindurch man zugleich das Gitterwerk und die Colonien sieht. Man bestimmt nun

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 36.

[2]) Die Nährgelatine muss zum Zwecke der Wasseruntersuchung eine bestimmte chemische Reaction besitzen; denn es hat sich gezeigt, dass Nährgelatinen, welche in dieser Beziehung unter einander differiren, aus einem bestimmten Volumen eines und desselben Wassers verschieden viel Colonien aufgehen lassen. Am günstigsten für die Entwickelung der Wasserbakterien hat sich im Allgemeinen eine Nährgelatine erwiesen, welche einen Gehalt von etwa 0,15 % Natriumcarbonat (dem neutralen Nährboden zugesetzt) hat. Mit einer solchen Nährgelatine erhält man im Allgemeinen das Maximum an Colonien aus einer bestimmten Wasserprobe. Jedoch scheinen sich verschiedene Wässer in dieser Beziehung etwas verschieden zu verhalten (cf. Reinsch, Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. No. 13).

[3]) Es empfiehlt sich, zu diesen Untersuchungen stets Platten, nicht Petri'sche Schälchen, zu nehmen. Nur auf Platten zeigt nach dem Erstarren die Culturgelatine überall gleichmässige Dicke; das letztere ist aber nothwendig, wenn man (siehe oben im Text weiter), zum Behufe der Zählung der entwickelten Colonien, aus einem Theile der Platte auf die ganze Platte schliessen will.

für eine Reihe von Quadraten durch directe Zählung die Anzahl der in jedem liegenden Colonien, nimmt daraus das Mittel und multiplicirt die gewonnene Zahl mit der Anzahl der Quadrate, die auf die ganze Platte kommen.

Ist die Zahl der auf der Platte zur Entwickelung gekommenen Colonien sehr gross, oder, was dasselbe sagt, liegen die Colonien sehr dicht neben einander, so gelingt es häufig gar nicht die Anzahl derselben mit Hülfe des beschriebenen Zählapparates zu bestimmen. In solchen Fällen kann man die Zählung sehr bequem unter dem Mikroskope[1]) vornehmen. Zu dem Zwecke bestimmt man sich zunächst, unter Zuhülfenahme eines Objectmikrometers, für sein Instrument — und zwar für ein bestimmtes, schwaches System, für ein bestimmtes Ocular und für eine bestimmte Tubuslänge — ein für alle Mal den Flächeninhalt des Gesichtsfeldes. Man bringt dann die Culturplatte unter diesen Bedingungen unter das Mikroskop und zählt eine grössere Reihe (20 bis 40) beliebig ausgewählter Gesichtsfelder bezüglich der Colonienanzahl aus; selbstverständlich berücksichtigt man dabei jedesmal (unter Benutzung des groben Tubustriebes) die Gelatineschicht in ihrer gesammten Dicke. Aus der sich daraus ergebenden Durchschnittszahl und aus dem Verhältniss der Grösse der ganzen Gelatineplatte zur Grösse des einzelnen Gesichtsfeldes lässt sich dann leicht die Anzahl der Colonien berechnen, welche auf die ganze Platte kommen. Unter Umständen, nämlich wenn die Anzahl der Colonien ganz ausserordentlich gross ist, führt auch dieses Verfahren noch nicht ohne Weiteres zum Ziele; es kommen dann nämlich so zahlreiche Colonien auf jedes Gesichtsfeld, dass ihre directe Auszählung unmöglich wird. Dann hilft man sich in der Weise, dass man jedesmal nur einen bestimmten, in seiner Ausdehnung vorher (mit Hülfe des Objectmikrometers) ausgemessenen, Theil des Gesichtsfeldes auszählt. Diesen Theil des Gesichtsfeldes grenzt man durch Linien ab, die auf einem Glasplättchen angebracht sind, welches auf das Diaphragma des Oculars gelegt wird. Bei der mikroskopischen Beobachtung sieht man die Linien dieses „Ocular-Netzmikrometers“[2]) gleichzeitig mit den mikroskopisch betrachteten Colonien.

Zum Zwecke der bakteriologischen Untersuchung wird das Wasser am Orte der Entnahme in sterile Gefässe (z. B. Erlenmeyer'sche Kölbchen) eingefüllt, die mit sterilisirtem Watteverschluss versehen und dann unverzüglich in das Laboratorium gebracht werden. Die

---

[1]) Cf. Buchner, Longard und Riedlin (Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. p. 3).

[2]) Die auf p. 44 genannten mikroskopischen Firmen führen derartige Instrumente.

entnommenen Proben sollen möglichst sofort in der oben angegebenen Weise zur Einsaat in Gelatine kommen. Das Letztere soll jedenfalls nicht später als etwa eine Stunde nach der Entnahme geschehen, weil die veränderten Bedingungen eine Veränderung des Bakteriengehaltes sowohl hinsichtlich der absoluten Quantität der Keime wie hinsichtlich der relativen Menge der verschiedenartigen Keime zur Folge haben. Unmittelbar vor der Einsaat in die Gelatine ist das zu untersuchende Wasser umzuschütteln, damit etwa zu Boden gegangene Keime aufgerührt werden und eine gleichmässige Vertheilung der Keime in der Probe erzielt wird. [1])

Die im Wasser gefundenen Bakterien gehören meist der Gruppe der Bacillen an. [2]) Vorwiegend kommen verflüssigende Arten zur Entwickelung. Man nennt die Bakterien, welche sich mit Vorliebe im (Fluss-, See-, Meer-) Wasser aufzuhalten pflegen, „Wasserbakterien“. Pathogene Bedeutung kommt denselben nicht zu. Pathogene Arten sind selten gefunden worden. Die wichtigsten hierhergehörigen Befunde sind die Befunde von Cholerabacillen in verschiedenen Wässern bei Gelegenheit von Choleraepidemien [3]), ferner zahlreiche Einzelbefunde von Typhusbacillen in dem Wasser durch Typhusdejectionen verunreinigter Brunnen.

Im Allgemeinen gehen pathogene Bakterien, die in gewöhnliches Wasser eingebracht werden, in kurzer Zeit zu Grunde; sie werden von den Wasserbakterien überwuchert. Jedoch scheint in dieser Beziehung die Temperatur des Wassers eine grosse Rolle zu spielen; höhere Temperatur (hohe Sommertemperatur) scheint begünstigend auf die Vermehrung pathogener Bakterien zu

---

[1]) Die Sedimentirung spielt, wie hier in unseren Gefässen, so auch in der Natur eine wichtige Rolle bezüglich des Bakteriengehaltes des Wassers. Grösse Wasserbecken mit langsamer Strömung, welche zunächst ein bakterienreiches Wasser aufnehmen, wirken stets als Kläranlagen. Sie lassen in sehr kurzer Zeit den allergrössten Theil der suspendirten Bakterienzellen zu Boden gehen; die letzteren häufen sich in Form einer zusammenhängenden schleimigen Masse auf dem Grunde an. (Cf. auch Rubner, Arch. f. Hyg. Bd. 11. 1890.)

[2]) Eine Reihe von Bacillenarten, die im Wasser regelmässig vorkommen, haben G. C. Frankland und P. F. Frankland (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889) beschrieben. Tils (ebenda Bd. 9. 1890) hat eine grössere Reihe von Bakterienarten, die er im (Freiburger) Leitungswasser fand, übersichtlich, in Tabellenform, beschrieben. Lustig (Diagnostik der Bakterien des Wassers. Jena und Turin. 2. Aufl. 1893. 128 Seiten) hat sich die Mühe genommen, die in der Literatur zerstreuten Angaben über Wasserbakterien zu sammeln und tabellarisch zu ordnen.

[3]) Der erste derartige Befund stammt von R. Koch. Koch fand die Cholerabacillen in einem Tank in der Nähe von Calcutta. (Koch's Bericht aus Calcutta vom 4. März 1884. — Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 222.)

wirken.[1]) In sterilisirtem Wasser können sich pathogene Arten lange Zeit lebend erhalten.

Bezüglich des Keimreichthums verschiedener Wässer macht Flügge[2]) folgende Angaben: „In der Regel beobachtet man in reinem Leitungs- und Quellwasser 2—50 Bakterien in 1 ccm, in reinen Pumpbrunnen 100—200—500, in filtrirtem Flusswasser 50—200, in unfiltrirtem Wasser rein gehaltener Flüsse 6000—20 000, in verunreinigten Brunnen bis zu 100 000, ebensoviel bei Störung des Filterbetriebes in Flusswasserleitungen; im Kanalwasser oder in stark verunreinigten Flussläufen 2—40 Millionen Bakterien in 1 ccm." In grossen Wasserbecken constatirte Karlinski[3]) eine Abnahme der Bakterienzahl nach der Tiefe zu. H. Buchner[4]) hat den Nachweis geführt, dass das Licht auf im Wasser suspendirte Bakterien einen gewaltig schädigenden Einfluss ausübt.

Selbstverständlich ist in hygienischer Beziehung die Frage, wie viele Keime in einem Cubikcentimeter eines bestimmten Wassers enthalten sind, von ganz untergeordneter Bedeutung gegenüber der Frage, welchen Arten die vorhandenen Keime angehören, speciell ob pathogene Keime in dem zu untersuchenden Wasser vorhanden sind oder nicht. Um die letztere Frage im Einzelfalle zu entscheiden, ging man früher ausschliesslich so vor, dass man eine Quantität des Wassers mit Nährgelatine vermischte, zur Platte ausgoss, und dass man dann unter den entwickelten Colonien auf pathogene (speciell kommen hier Cholera- und Typhusbakterien in Betracht) fahndete. Die Feststellung vereinzelter Colonien pathogener Bakterien auf der Platte neben einer grossen Ueberzahl nicht pathogener Colonien hat aber sehr grosse Schwierigkeiten, und nur in seltenen Fällen hat die Plattenaussaat zur Feststellung pathogener Keime in dem untersuchten Wasser geführt (cf. p. 155). Die sichere Beantwortung der Frage, ob ein bestimmtes Wasser gesundheitsschädlich ist oder nicht, ist also mit Hülfe der geschilderten Methode kaum zu geben; und auch die Untersuchung der chemischen Beschaffenheit des Wassers kann diese Frage nicht ausreichend beantworten, da die Krankheitserreger nicht todte chemische Körper, sondern lebende Wesen sind.

Was die Untersuchung speciell auf Cholerabakterien angeht,

---

[1]) Cf. Hueppe, Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 110. — Auch eine Zunahme des Kochsalzgehaltes im Wasser wirkt begünstigend auf die Vermehrung pathogener Bakterien.

[2]) Grundriss d. Hygiene. Leipzig. 1889. p. 210.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 7/8.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 25.

so sind in jüngster Zeit von verschiedenen Seiten[1]) Verbesserungen des Verfahrens der bakteriologischen Wasseruntersuchung angegeben worden, die darauf beruhen, dass man dem zu prüfenden Wasser zunächst bestimmte für das Wachsthum der Cholerabakterien günstige Zusätze giebt und dasselbe dann eine gewisse Zeit bei einer für die Cholerabakterien sehr günstigen, für die Wasserbakterien weniger günstigen Temperatur stehen lässt. Man erzielt so bei dem Vorhandensein von Cholerakeimen in dem Wasser eine Vermehrung derselben; und eine dann folgende Plattenaussaat bietet viel mehr Chancen für das Auffinden der Cholerakeime, als es die Plattenaussaat des ursprünglichen Wassers gethan hätte. Mit diesem verbesserten Verfahren hat z. B. Koch während der Winterepidemien 1892/93 in einer Reihe von Fällen Cholerabacillen im Wasser nachgewiesen. Für die Untersuchung des Wassers auf Typhusbacillen haben wir derartige verbesserte Methoden bis jetzt nicht. Hier sind wir auf die primäre Plattenuntersuchung des ursprünglichen Wassers angewiesen.

Noch in anderer Hinsicht aber ist die bakteriologische Wasseruntersuchung von grosser Bedeutung für die Hygiene. Wenn es sich darum handelt, ein grösseres Gemeinwesen mit einer centralen Wasserversorgung zu versehen, so sind wir, wenn nicht Quellwasser oder das unter normalen Verhältnissen keimfreie (cf. unten p. 159) Grundwasser in ausgiebigem Masse zur Verfügung stehen, darauf angewiesen, Oberflächenwasser (Fluss-, Seewasser) zu nehmen. Das Oberflächenwasser ist nun (cf. oben p. 156) schon an und für sich fast ausnahmslos reich an organischen Keimen; und zu Zeiten von Cholera- oder Typhusepidemien liegt die Gefahr ausserordentlich nahe, dass in dieses Wasser hinein die entsprechenden Krankheitskeime gelangen und dann durch die Wasserleitung überall hin verschleppt werden. Es ist also ein hygienisches Gebot ersten Ranges, dass das für die Wasserversorgung bestimmte Oberflächenwasser zunächst von den in ihm eventuell vorhandenen Infectionskeimen befreit werde. Das kann aber nur so geschehen, dass man die im Wasser vorhandenen organischen Keime überhaupt entfernt. Das beste Mittel, Wasser von organischen Keimen zu befreien, ist selbstverständlich das Kochen desselben resp. das Sterilisiren durch Erhitzung. Dies lässt sich aber nur im Kleinen ausführen. Soll im Grossen möglichst keimfreies Wasser hergestellt werden, so muss das Wasser durch Filtration von den Keimen befreit werden. Am besten geschieht

---

[1]) Näheres hierüber siehe weiter hinten bei Gelegenheit der Besprechung des Cholerabacillus.

dies durch die, in vielen Städten bereits eingeführte, Sandfiltration.[1]) Die bakteriologische Prüfung des Wassers vor und nach der Filtration gewährt uns nun ein unfehlbares, durch nichts anderes zu ersetzendes Mittel, den genannten Filtrationsprocess zu controliren. Hierin liegt mit der Hauptwerth der bakteriologischen Wasseruntersuchung.[2])

Bei der künstlichen Filtration des Wassers durch Sand werden übrigens nicht alle Keime, sondern nur der allergrösste Theil derselben aus dem Rohwasser entfernt. Die in dem filtrirten Wasser vorhandenen Keime stammen zum allergrössten Theile nicht aus dem Rohwasser, söndern aus den unteren (Stein-, Kies- und Sand-) Schichten der Sandfilter, welche letzteren sich im Laufe der Zeit mit Bakterienvegetationen überziehen. Diese Filterbakterien sind harmlose Wasserbewohner ohne pathogene Bedeutung.

Kleinfilter, d. h. Wasserfilter für den Hausgebrauch, sind im Allgemeinen nicht zu empfehlen. Wir kennen keine einzige Construction, die für längere Zeit die Mikroorganismen mit Sicherheit aus dem Wasser entfernt und dabei genügende Mengen Wassers fördert. — Ueber die filtrirende Wirkung des Erdbodens vergl. den nächsten Abschnitt (p. 160).

c. Bodenuntersuchung.

Um den Gehalt einer bestimmten Bodenprobe an Mikroorganismen zu untersuchen, verfährt man nach C. Fraenkel[3]), dem wir eine der

[1]) Indem bezüglich genauerer Daten über Sandfiltration auf die Arbeiten von Plagge und Proskauer (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887), ferner von C. Fränkel und Piefke (ebenda Bd. 8. 1890), ferner von R. Koch (ebenda Bd. 14. 1893) verwiesen wird, soll hier nur auf folgende für die Sandfiltration wichtigen Punkte aufmerksam gemacht werden: Das eigentlich Filtrirende in den Sandfiltern ist nicht der Sand selbst, sondern die Schlammdecke, welche sich durch Sedimentirung der in dem Wasser suspendirten Bestandtheile auf der Sandoberfläche ansammelt. Es kommt darauf an, dass dieso Schlammschicht sich zunächst regelrecht bildet. Nach ihrer Bildung kann die Filtration vor sich gehen. Die Filtrationsgeschwindigkeit soll über ein Maximum von 100 mm in der Stunde nicht hinausgehen. Die sich allmählich verdickende und damit dem Wasser immer mehr Widerstand bietende Schlammschicht soll zu rechter Zeit entfernt werden. Die Sandschicht soll stets mindestens 30 cm hoch bleiben. Jedes einzelne Filter eines Filterwerks soll mit einer Einrichtung versehen sein, die es gestattet, das filtrirte Wasser zu entnehmen, um es bakteriologisch auf seinen Keimgehalt zu untersuchen. Die Untersuchung hat möglichst oft zu geschehen. Es muss an jedem Filter eine Einrichtung vorhanden sein, die es ermöglicht, das ungenügend gereinigte Wasser zu entfernen, ohne dass es sich mit dem gut filtrirten Wasser mischt.

[2]) Cf. R. Koch, 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandl. Bd. 1. p. 44.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

besten Arbeiten über diesen Gegenstand verdanken, so, dass man eine abgemessene Quantität des Bodenmaterials in ein Reagenzröhrchen mit geschmolzener Gelatine einfüllt, das Material dann gründlich in der Gelatine vertheilt und die Gelatine nachher an den Wandungen des Röhrchens nach der Esmarch'schen (cf. p. 139) Methode ausrollt. So behält man das gesammte Material innerhalb des Röhrchens, während beim Ausgiessen der Gelatine auf eine Platte etc. ein Theil der Keime, an Erdbröckelchen anhaftend, im Glase zurückbleiben würde, und das Resultat dadurch ein unsicheres werden würde. Fig. 24 auf Taf. IV zeigt ein solches Röhrchen, welches mit Gartenerde beschickt wurde (cf. oben p. 139). C. Fraenkel hat ein besonderes, sinnreich eingerichtetes Bohrinstrument construirt, welches gestattet, Erdproben aus beliebiger Tiefe ohne jede Verunreinigung zur Untersuchung heraufzuholen.

Uebrigens muss (wie bei Wasseruntersuchungen [p. 155]) auch bei Bodenuntersuchungen die Einsaat des Materials in die Gelatine möglichst bald nach der Entnahme desselben aus dem Boden geschehen, da sonst in Folge der veränderten Bedingungen (veränderte Temperatur, veränderte Zusammensetzung der umgebenden Luft) eine uncontrolirbare Vermehrung einzelner Mikroorganismenarten in dem Materiale selbst stattfindet.

Bei den Bodenuntersuchungen hat sich nun ergeben, dass die oberen Schichten des Bodens überall, sowohl bei bebautem wie bei jungfräulichem Terrain, sehr keimreich sind. „Es finden sich im Durchschnitt selbst im jungfräulichen, unbebauten Boden ca. 100000 Keime in 1 ccm Boden, oft noch erheblich mehr" (Flügge)[1]). Dieser Keimreichthum erleidet nach der Tiefe zu eine Abnahme; und zwar ist diese Abnahme eine allmähliche bis etwa zur Tiefe von $1^1/_4$ m. Dort wird die Abnahme plötzlich eine sehr rapide, so dass schon wenige Decimeter tiefer der Boden häufig völlig keimfrei angetroffen wird. Die Schicht des Grundwassers ist gewöhnlich vollständig keimfrei. Die geschilderte Vertheilung der Bakterienkeime im Boden ist so zu deuten, dass die Keime von aussen, durch die Luft oder mit Dungstoffen etc., auf die Oberfläche und in die obersten Schichten des Bodens gelangen, dass sie dann, eventuell nachdem in dem einen oder anderen Falle eine Vermehrung stattgefunden hat, mit dem in den Boden einsickernden Regen- etc. Wasser mehr in die Tiefe gespült werden. Während aber das Wasser seinen Weg durch den porösen Boden hindurch bis in das Grundwasser hinein weiter findet, bleiben die Bakterien

[1]) Grundriss der Hygiene. Leipzig. 1889. p. 192.

als feste Theile zwischen den Partikelchen des Bodens hängen, so dass also, je nach der Bodenbeschaffenheit in wechselnder Tiefe, das Wasser der vorher beigemischten Bakterien entledigt ist. Es findet hier dieselbe filtrirende Wirkung der Erdpartikelchen statt, wie wir sie bei den Sandfiltern der Wasserleitung (cf. oben p. 158) künstlich herstellen. Nur ist die natürliche filtrirende Wirkung des Bodens der filtrirenden Wirkung der künstlichen Sandfilter ganz ausserordentlich überlegen, und zwar einfach aus dem Grunde, weil die Filtrationsgeschwindigkeit im Boden eine so sehr viel langsamere ist als in den künstlichen Filtern.

Da das Grundwasser in der Regel keimfrei ist, so liefern die Röhrenbrunnen dann wirklich keimfreies Wasser, wenn das Rohr selbst frei von Keimen ist. Durch einfaches Ausbürsten des Brunnenrohres gelang es C. Fraenkel[1]) in einem bestimmten Falle, das Brunnenwasser, welches vorher recht keimreich gewesen war, für eine Reihe von Tagen völlig steril zu machen. Die Kesselbrunnen, welche Verunreinigungen von aussen fortgesetzt preisgegeben sind, lassen sich natürlich nicht in dieser Weise säubern.

Die im Boden vorkommenden Bakterienarten[2]) gehören meist zu den Bacillen. Vorwiegend fand Koch[3]) bei seinen ersten orientirenden Untersuchungen den Heubacillus und den „wurzelförmigen“ Bacillus. Beide sind nicht pathogen. Colonien des „wurzelförmigen“ Bacillus sieht man übrigens auch in dem Taf. IV, Fig. 24, dargestellten, mit Gartenerde angelegten Culturröhrchen. Die Colonien sind durch die feinen von ihrer Peripherie ausgehenden Ausläufer kenntlich. Den „wurzelförmigen“ Bacillus, auch „Erdebacillus“ genannt, findet man fast ausnahmslos in jeder Bodenprobe. Auf bebautem Terrain fand C. Fraenkel von pathogenen Bakterien häufig den Bacillus des malignen Oedems. Derselbe wird in gedüngter Gartenerde fast stets gefunden. Hier kommt auch der Tetanusbacillus vor.

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[2]) Fülles (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891) hat eine grössere Reihe von Bakterienarten, welche er im (Freiburger) Boden fand, übersichtlich, in Tabellenform. beschrieben.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 35.

B. Die Bakterien als Krankheitserreger.

I.

Einleitendes.



Von einer ganzen Reihe von Bakterienarten hat man nachgewiesen, dass ihnen die Fähigkeit zukommt, in den lebenden thierischen Körper einzudringen und denselben zur Erkrankung zu bringen. Man hat sich das so vorzustellen, dass der lebende thierische Körper hierbei den Bakterien in ähnlicher Weise zum Nährboden dient, wie dies sonst todtes organisches Substrat thut. In beiden Fällen wachsen die Bakterien und vermehren sich auf Kosten des Nährbodens; in dem einen Falle wird das todte Nährmaterial dabei in bestimmter Weise verändert, in dem anderen Falle ist es die Substanz des lebenden Körpers, welche durch das Bakterienwachsthum verändert wird. Die Veränderungen, welche der lebende Körper auf diese Weise erleidet, kommen in ihrer Gesammtheit als Erkrankung des Körpers zum Ausdruck; und man bezeichnet ganz im Allgemeinen solche Krankheiten, die durch die Vermehrung in die Körpersubstanz eingedrungener organischer Keime hervorgerufen werden, als „Infectionskrankheiten". Das Eindringen der Keime in den Organismus bezeichnet man als „Infection" desselben. Diese organischen Keime brauchen nicht stets Bakterien zu sein. Wir kennen auch andere, pflanzliche sowohl wie thierische, Mikroorganismen, welche in analoger Weise krankhafte Veränderungen des thierischen Körpers veranlassen können.

Diejenigen Mikroorganismen, welchen derartige krankheitserregende Eigenschaften zukommen, bezeichnet man als Parasiten gegenüber denjenigen, die auf todtem organischen Material vegetiren, und die man Saprophyten nennt. Die durch die parasitischen Bakterien hervorgerufenen Krankheiten sind je nach den verschiedenen Bakterienarten verschieden, und jede hierher gehörige Infectionskrankheit hat ihren specifischen Erreger. Ein jeder

dieser Erreger vermag aber nur bei ganz bestimmten (je für die verschiedenen Bakterienarten verschiedenen) Thierspecies Erkrankung zu veranlassen, während die anderen Thierspecies durch ihn nicht beeinflusst werden: Für jede hierher gehörige Parasitenart existiren bestimmte „empfängliche“ Thierspecies. Auch kann die nach der Einverleibung eines bestimmten Erregers in den Organismus eintretende Erkrankung eine verschiedene sein, je nachdem die befallenen Thiere verschiedenen Arten, oder sogar je nachdem sie verschiedenen Altersstufen einer und derselben Thierart angehören.

Es giebt unter den parasitischen Bakterienarten manche, die behufs ihrer Entwickelung des lebenden Organismus als Nährbodens durchaus bedürfen, die ausserhalb dieses lebenden Organismus in der Natur sonst nicht existiren können. Diese nennt man obligate (echte, strenge) Parasiten. Auf der anderen Seite giebt es parasitische Bakterienarten, welche gewöhnlich ein saprophytisches Dasein führen, draussen in der Natur an geeigneter Stelle die Bedingungen für ihre Existenz finden, und die die Invasion des lebenden Organismus nur als gelegentlichen Abstecher betrachten, dessen sie zu ihrer Existenz durchaus nicht bedürfen. Diese Arten nennt man facultative (gelegentliche) Parasiten. Zu dem Begriffe des Parasitismus gehört aber immer, dass die Bakterien nicht bloss auf oder in dem lebenden Organismus vegetiren, sondern dass sie von der Substanz des Organismus selbst ihre Existenz bestreiten, die lebende Substanz also verändern. So sind z. B. die Milliarden von Bakterien, die in dem Inhalte unseres Darmes stets gefunden werden, keine Parasiten, sondern Saprophyten; denn sie ernähren sich nicht von der lebenden Substanz unseres Darmes, sondern von dem todten Materiale, welches innerhalb desselben vorhanden ist. Würde der Fall eintreten, dass die in dem Darmlumen auf dem todten Materiale vegetirenden Bakterien giftige Stoffwechselproducte bildeten, die, von den Organen der Darmwand aufgesogen, in den Körper überträten und denselben zur Erkrankung brächten, so würde man ebenfalls nicht von „Parasiten“, von einer „Infection“, reden können, sondern man müsste einen derartigen Vorgang als „Intoxication“ bezeichnen, veranlasst durch die Resorption bestimmter, durch saprophytische Bakterien im Darmkanal gebildeter chemischer Zersetzungsproducte. Zu einer „Infection“ gehört stets, dass die lebende Substanz des Körpers von den Mikroorganismen befallen wird, und dass die letzteren sich auf Kosten der lebenden Substanz vermehren.

Wenn wir nun bei einem bestimmten Krankheitsfalle Bakterien.

oder ganz im Allgemeinen Mikroorganismen, im Körper aufgefunden haben, sind wir dann berechtigt, dieselben als Erreger der Krankheit anzusprechen? Durchaus noch nicht. Zu einem derartigen Urtheile gehört mehr als der blosse Befund, womöglich der Befund in vereinzelten Fällen der Krankheit. Zunächst ist der Nachweis zu führen, dass in allen Fällen der betreffenden Krankheit, die uns irgend zur Untersuchung zugänglich sind, der Befund wiederkehrt, dass wir es mit einem constanten, nicht vereinzelten Befunde zu thun haben. Weiter darf sich dieser Befund bei keiner anderen Krankheit zeigen, er muss etwas für die untersuchte Krankheit Specifisches darstellen.

Ist ein constanter specifischer Bakterienbefund oder überhaupt ein constanter specifischer Befund von Organismen bei einer bestimmten Krankheit festgestellt, werden die Organismen unter Verhältnissen angetroffen, welche den pathologischen Veränderungen und dem klinischen Verlaufe der Krankheit entsprechen, so ist damit bereits ausserordentlich viel gewonnen. Es kann nicht oft genug darauf hingewiesen werden, dass dieser Punkt erst erledigt sein muss, ehe an irgend etwas Weiteres gedacht werden kann. So konnte z. B. der (jetzt verlassene) aus der Luft von Malariagegenden gezüchtete „Malariabacillus" von vornherein keine Aussicht auf definitive Anerkennung haben, weil im Körper des Malariakranken überhaupt niemals ein parasitirender Bacillus gefunden worden ist. Wenn man das Gebäude der Feststellung der Aetiologie einer bestimmten Infectionskrankheit aufrichten will, so darf man, wie uns die logische Art des Vorgehens R. Koch's eindringlich gelehrt hat, nicht mit dem Dach beginnen, sondern muss mit dem Fundamente den Anfang machen. Das Fundament aber ist der constante Nachweis der Parasiten im erkrankten Körper, und zwar der mikroskopische Nachweis.

Wie man es anfängt, Bakterien mikroskopisch nachzuweisen, haben wir oben (p. 43 ff.) ausführlich erörtert. Es soll hier nur auf Täuschungen, denen man dabei eventuell ausgesetzt sein könnte, hingewiesen werden.[1]) Man wird sich zunächst hüten müssen, etwaige Farbstoffniederschläge, die sich im Präparate finden, für Bakterien zu halten. Die Beschränkung dieser Niederschläge auf die Oberfläche des Schnittes, die verschiedene Grösse und Gestalt derselben lässt hier Verwechselungen nicht leicht zu. Ebenso wird man sich hüten, die Körner der Mastzellen für Mikrococcen anzu-

---

[1]) cf. R. Koch, Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten. Leipzig. 1878. p. 37.

sprechen (cf. p. 89). Hat man wirklich Bakterien vor sich, so könnten dieselben aus den Farblösungen oder sonstigen benutzten Reagentien stammen. Sie könnten dahinein durch irgend welchen Zufall gerathen sein, sich eventuell sogar darin vermehrt haben, um nachher auf dem in der Farblösung etc. behandelten Schnitt (ebenfalls oberflächlich) sich festzusetzen. Hat man diese Täuschungen vermieden, hat man wirklich Bakterien vor sich, die innerhalb des Schnittes liegen, so muss der Einwand ausgeschlossen werden, dass es sich eventuell um Fäulnissbakterien handeln könnte, welche post mortem in das Organ hineingelangt sind. „Jedesmal, wenn einzelne Bakterien nur in den oberflächlichen Schichten von Organen gefunden werden, ist zu vermuthen, dass es sich um beginnende Fäulniss handelt" (Koch[1]). Es ergiebt sich hieraus die Regel, die Section zu untersuchender Leichen stets möglichst bald nach dem Tode vorzunehmen und die Organe möglichst sofort in Alcohol einzulegen.

Findet man aber die Bakterien im Innern von Organen in Lageverhältnissen, die nur während des Lebens zu Stande kommen können, „oder ist gar der unverkennbare Einfluss der Mikroorganismen auf das von ihrer Invasion betroffene Gewebe, z. B. Nekrose der in einem gewissen Bereich gelegenen Zellen, Anhäufung von Rundzellen in der Nachbarschaft, Eindringen der fremden Organismen in die Zellen u. s. w. zu constatiren, dann müssen solche Mikroorganismen als pathogen angesehen werden; mindestens müssen sie verdächtig erscheinen und zur weiteren Untersuchung und Aufklärung des Befundes auffordern" (Koch[2]).

Eine besondere Berücksichtigung verdienen die Oberflächen der äusseren Haut und der Schleimhäute (namentlich des Darmes), an denen normaler Weise harmlose Bakterien schmarotzen, die nicht für pathogene gehalten werden dürfen.

Uebrigens werden wir uns mit dem Nachweise von „Sporen" im Gewebe nie begnügen dürfen. Es liegt in der Natur der Sache, dass die im thierischen Körper sich vermehrenden Bakterien, hier also im Speciellen die Bacillen, in ihren vegetativen Formen vorhanden sind. Das schliesst nicht aus, dass unter Umständen, speciell bei den anaëroben Bacillenarten, auch sporentragende Stäbchen gefunden werden können. Das isolirte Vorkommen von „Sporen" im Gewebe aber, das übrigens einwandsfrei mikroskopisch kaum nachzuweisen sein dürfte, ist bisher nicht beobachtet und auch wohl unmöglich; und ein solcher

---

[1]) Ebenda.
[2]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1881. p. 2.

vermeintlicher Nachweis muss deshalb stets mit der grössten Reserve aufgenommen werden und darf jedenfalls nicht als Beweis für das Vorhandensein von Bakterien im Gewebe gelten.

Hat man die constante Anwesenheit bestimmter Bakterienformen in allen Fällen einer bestimmten Krankheit sowie ihr Fehlen bei anderen Krankheiten mikroskopisch nachgewiesen, so kann man daran denken, die aufgefundenen Bakterien künstlich zu züchten. Zu diesem Zwecke müssen wir aus den von den Bakterien befallenen Organen Material entnehmen und dies unter möglichster Vermeidung von Verunreinigungen auf künstliche sterile Nährböden bringen. Man säubert dann bei der Section die zu durchschneidende Haut der auf dem Sectionsbrett fixirten Thiere äusserlich durch sorgfältiges Enthaaren und Abwaschen mit Sublimatlösung unter nachheriger eventueller Nachspülung mit Alcohol und Aether. Die zu benutzenden Messer, Scheren, Pincetten etc. werden in durch Ausglühen sterilisirtem Zustande angewendet. Die so in möglichst originalem Zustande entnommenen Organe werden mit sterilem Messer durchschnitten; und es werden nun mit sterilem Instrumente Partikelchen aus dem Organ herausgenommen und davon Plattenculturen angelegt, um die in dem Organ vorhandenen Bakterienkeime zu isoliren und ihre Eigenschaften in sicheren Reinculturen weiterhin prüfen zu können. Man wird sich hierbei natürlich nicht mit der Nährgelatine begnügen dürfen, sondern wird jedenfalls auch Agarplatten anzulegen haben, um die Züchtung der Colonien bei Brüttemperatur vornehmen zu können. Ausser durch die Plattencultur erreicht man die sichere Isolirung der einzelnen Keime bekanntlich auch durch Oberflächen-Strichculturen, welche man auf durchsichtigem festem Nährboden anlegt (cf. oben p. 142). Da die verschiedenen Bakterienarten verschiedene Ansprüche stellen, und es speciell manche pathogene Arten giebt, die weder auf der Gelatine noch auf dem Agar wachsen, so muss man daneben noch andere Nährböden, wie Glycerin-Agar, Traubenzucker-Agar, erstarrtes Blutserum, Blutserum-Agar, bereit haben, um die Züchtung darauf zu versuchen. Auch darauf wird man im gegebenen Falle Rücksicht zu nehmen haben, dass die zu züchtenden Bakterien den obligaten Anaëroben angehören könnten.

Es ist jedenfalls zunächst immer danach zu streben, eine Isolirung der Keime zu erreichen. Denn gar häufig ist es der Fall, dass nicht nur eine einzige Bakterienart, sondern mehrere Arten in dem zu untersuchenden Organe vorhanden sind, von denen der einen die wesentliche Bedeutung zukommt, während die andere nur einer Zufälligkeit ihre Anwesenheit verdankt. Sorgt man nun nicht für eine

Isolirung der Keime bei der Anlage der Cultur, sticht man z. B. mit dem in das Material getauchten Platindrahte in feste Gelatine ein, legt „primär eine Stichcultur" an, so wird häufig nur diejenige Bakterienart zur Entwickelung kommen, welche in dem Nährboden die besten Lebensbedingungen findet, während die andere, vielleicht gerade die wesentliche Art, durch das Wachsthum der ersteren erdrückt wird. Man begiebt sich so jeder Uebersicht über die ursprünglich vorhandenen Keime.

Bei manchen Krankheiten, bei denen man bestimmte, unzweifelhaft parasitäre Organismen constant findet, ist die künstliche Züchtung der letzteren bisher nicht gelungen. Solche Krankheiten sind z. B. das Recurrensfieber und die intermittirenden (Malaria-) Fieber. Hier sind wir vorläufig auf den constanten specifischen Befund allein angewiesen.

Ist die Reinzüchtung einer bestimmten im Körper gefundenen Art gelungen, so müssen wir die Cultur zunächst durch eine grössere Reihe von Generationen hindurch von einem Nährboden auf den anderen fortpflanzen. Unser schliessliches Ziel ist es nämlich, durch Uebertragung der reingezüchteten Bakterienart auf ein empfängliches Versuchsthier ihre Pathogenität sicher zu stellen. Es wäre jedoch, wollten wir von der ersten Culturgeneration die Uebertragung auf das Thier bewirken, der Einwand berechtigt, dass wir mit den Bakterien zugleich irgend welche direct aus dem Ausgangsthiere stammenden chemischen Stoffe auf das neue Thier übertragen hätten, und dass nicht die Bakterien, sondern diese chemischen Körper die eventuelle Erkrankung des Thieres herbeigeführt hätten, mit anderen Worten: dass nicht eine Infection, sondern eine Intoxication vorläge. Uebertragen wir dagegen Material aus einer späteren Culturgeneration, so ist ein derartiger Einwand natürlich hinfällig.

Finden wir nun, dass durch die Uebertragung des aus einer späteren Culturgeneration stammenden Materiales auf ein Versuchsthier eine Krankheit bei diesem Thiere — nicht in einem Falle, sondern in allen Fällen, in denen wir den Versuch wiederholen — entsteht, die der Ausgangskrankheit gleicht, erheben wir bei diesen Thieren denselben Bakterienbefund wie bei dem Ausgangsthiere, so ist die Kette des Beweises geschlossen, dass die reingezüchteten Bakterien das ätiologische Moment der untersuchten Krankheit darstellen.

Handelt es sich um eine Thierkrankheit, so ist das empfängliche Versuchsthier ohne Weiteres gegeben; handelt es sich dagegen um eine specifische Krankheit des Menschen, so gelingt

es häufig gar nicht ein empfängliches Versuchsthier zu finden.[1]) Es hat sich aber ergeben, „dass in allen den Fällen, in welchen es gelungen ist, bei einer Infectionskrankheit das regelmässige und ausschliessliche Vorkommen von Bakterien nachzuweisen, letztere sich niemals wie zufällige Schmarotzer, sondern wie die bereits sicher als pathogen erkannten Bakterien verhielten. Wir sind deshalb wohl jetzt schon zu der Behauptung berechtigt, dass, wenn das regelmässige und ausschliessliche Vorkommen des Parasiten nachgewiesen wurde, damit der ursächliche Zusammenhang zwischen Parasit und Krankheit auch vollgültig bewiesen ist.“ (R. Koch[2])).

---

[1]) Der Mangel einer empfänglichen Thierspecies macht sich besonders in solchen Fällen fühlbar, wenn es sich darum handelt, zu entscheiden, ob eine Bakterienart, die man irgendwo in der Natur, ausserhalb des menschlichen Körpers, gefunden hat, mit einer bestimmten für den Menschen pathogenen Art identisch ist oder nicht. Wenn z. B. bei Gelegenheit einer Typhusepidemie in dem infectionsverdächtigen Brunnenwasser eine bestimmte typhusbacillenähnliche Bakterienart gefunden ist; welche Kriterien giebt es, die die sichere Entscheidung, ob der Typhusbacillus vorliegt oder nicht, ermöglichen? Wir können ganz im Allgemeinen sagen, dass wir in derartigen Fällen, in denen es sich um für den Menschen specifisch pathogene Arten handelt, die, ausserhalb des erkrankten menschlichen Körpers oder ausser Zusammenhang mit einem bestimmten entsprechenden Krankheitsfalle aufgefunden, identificirt werden sollen, fast jedesmal auf ein negatives Urtheil angewiesen sind. Wir müssen nämlich in solchen Fällen — bei dem Mangel einer empfänglichen Thierspecies — uns nothgedrungen damit begnügen, die Wachsthums- und Lebenserscheinungen der zu bestimmenden Bakterienart auf den verschiedensten künstlichen Nährböden und unter den verschiedensten sonstigen äusseren Bedingungen zu studiren (am besten unter ständiger Vergleichung mit einer authentischen Cultur der entsprechenden pathogenen Art). Finden wir dann keinerlei Differenzen zwischen den Eigenschaften der zu bestimmenden Art und denen der authentisch festgestellten, so können wir zwar aussprechen, dass wir die Identität der beiden Arten für höchst wahrscheinlich halten; aber mit Bestimmtheit können wir die Identität nicht aussprechen. Wir sind im Wesentlichen darauf angewiesen, zu sagen, dass der heutige Stand der Wissenschaft nicht ermöglicht, Unterschiede festzustellen.

Ganz ausserordentlich anders liegen die Dinge, wenn die zu prüfenden und zu bestimmenden Bakterien innerhalb des erkrankten menschlichen Körpers (z. B. in der frischen Leiche) oder in unmittelbarem Zusammenhange mit dem Krankheitsfalle (z. B. in frisch entleerten Fäces des Erkrankten) gefunden werden. Hier haben wir ausser den festzustellenden Cultureigenthümlichkeiten vor allem das wichtige Kriterium für die Beurtheilung, dass die fragliche Bakterienart sich innerhalb des menschlichen Körpers, und zwar in einem klinisch in bestimmter Weise characterisirten Falle, entwickelt und vermehrt hat. Handelt es sich um Befunde in Organen der frischen Leiche, so kommt dazu noch die mikroskopisch feststellbare Localisirung der Bakterien in dem Gewebe. Auf diese Weise ist die Diagnosticirung der gefundenen Bakterien häufig ohne Weiteres mit Bestimmtheit möglich.

[2]) 10. Internat. medic. Congr. 1890. Verhandl. Bd. I. p. 40.

Auf der anderen Seite kommt es auch vor, dass empfängliche Versuchsthiere existiren, ohne dass eine Züchtung der Erreger auf künstlichen Nährböden bis jetzt möglich gewesen ist; dies ist bei dem Recurrensfieber der Fall, für welches der Affe empfänglich ist.

Bezüglich der Weiterübertragung der Culturen pathogener Bakterien von einem Nährboden zum anderen ist übrigens noch folgendes zu bemerken: Wir sehen gar nicht selten, dass eine bestimmte Art auf dem künstlichen Nährboden zunächst nur kümmerlich wächst, während sie bei weiteren Uebertragungen allmählich an Wachsthumsenergie zunimmt und schliesslich sehr gut auf dem künstlichen Nährboden fortkommt. Man bezeichnet dies Vorkommniss als Anpassung an den künstlichen Nährboden. Damit ist nun gewöhnlich eine Abnahme der pathogenen Eigenschaften oder auch ein vollständiges Verschwinden derselben verbunden. Der Parasit hat sich an das saprophytische Dasein gewöhnt. Hierauf hat man bei den anzustellenden Thierversuchen zu achten. Bei einzelnen Arten sieht man auch, dass sie auf dem künstlichen Nährboden bald absterben. Während saprophytische Organismen gewöhnlich Monate lang übertragbar bleiben, verlieren einzelne pathogene Arten ihre Uebertragbarkeit schon nach wenigen Tagen.

Als Prototyp einer Infectionskrankheit, deren Aetiologie nach den vorstehend gezeichneten, von R. Koch geschaffenen Principien ermittelt, und zwar mit unanfechtbarer Sicherheit ermittelt wurde, kann der Milzbrand gelten. Nach denselben Principien haben später Koch sowohl wie auch andere Autoren, die sich seine Methoden zu eigen machten, die Entstehungsursache einer Reihe weiterer Infectionskrankheiten klargelegt. Die erste, durch Bakterien veranlasste Infectionskrankheit, deren Aetiologie ermittelt wurde, war aber der Milzbrand. Es ist leicht einzusehen, weshalb Koch gerade diese Krankheit zum ersten Objecte seiner Untersuchungen machte. Man wusste bereits längere Zeit, dass im Milzbrandblute Stäbchen gefunden werden; diese Stäbchen waren relativ gross, eigneten sich also zur Beobachtung besonders; ferner waren, falls es gelang, die Stäbchen künstlich in Reinculturen zu züchten, empfängliche Versuchsthiere sicher vorhanden, da es sich ja um eine Thierkrankheit handelte. Die Schwierigkeiten der Forschung waren beim Milzbrande also noch relativ gering; und die streng logische Art des Vorgehens Rob. Koch's spricht sich bereits darin deutlich aus, dass er sich zunächst relativ leichter zu lösende Aufgaben stellte, um später, mit immer mehr vervollständigter und ausgebauter Methodik, an so schwierige Aufgaben heranzutreten, wie sie sich z. B. in der Erforschung der Ursache der Tuberculose darstellten.

Nicht bei allen infectiösen Krankheiten hat man bisher die Erreger zu ermitteln vermocht. Von den „acuten Exanthemen" (Masern, Scharlach, Flecktyphus, Pocken etc.) wissen wir noch gar nichts bezüglich ihrer Entstehungsursache; auch über die Krankheitserreger der Hundswuth, des Keuchhustens, des Trachoms, des Gelbfiebers, der Rinderpest, der Lungenseuche und mancher anderer unzweifelhafter Infectionskrankheiten wissen wir noch gar nichts. Und doch müssen hier parasitäre Organismen existiren, die die Erkrankung veranlassen. Ob diese Parasiten zu den Bakterien gehören, ist allerdings höchst zweifelhaft. Bakterienbefunde sind bei allen diesen Krankheiten erhoben worden, nicht selten mit dem Anspruche, dass hiermit der Erreger gefunden sei. Es handelt sich in allen diesen Fällen um logische Fehler in der Art und Weise, aus Beobachtungen Schlüsse zu ziehen. Nicht die Thatsache allein, dass man in dem und jenem Falle einer Infectionskrankheit Bakterien findet, berechtigt dazu, dieselben für die Erreger der Krankheit anzusehen. Dazu gehören, wie wir gesehen haben, zwingendere Beweisgründe. Die gefundenen Bakterien können rein nebensächliche Befunde darstellen, sie können eventuell der Ausdruck einer zu der ursprünglichen, primären Infection in dem einen oder anderen Krankheitsfalle dazugekommenen „secundären Infection" sein. Man bezeichnet solche Combinationen auch als „Mischinfectionen".[1])

Die acuten Exantheme sind exquisit „contagiös", d. h. von Fall zu Fall ansteckend und übertragbar. Es mag an dieser Stelle auf den Unterschied zwischen Infectiosität und Contagiosität hingewiesen werden. Eine jede durch specifische Parasiten hervorgerufene Krankheit ist „infectiös". Man „inficirt" sich mit Cholera, mit Pocken, mit Malaria. Dabei wird auf irgend welche Weise der jedes-

[1]) Der Begriff der Mischinfection („gemischte Infection") ist zuerst von Ehrlich (Charité-Annalen. 7. Jahrgang. 1882. p. 223) aufgestellt worden. Vergl. auch Ehrlich und Brieger (Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 44). — Nencki (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 8) hat gezeigt, dass unter Umständen bei gleichzeitiger Einwirkung zweier Mikroben auf ein Nährsubstrat ein neues (chemisches) Stoffwechselproduct entstehen kann, welches keiner der beiden Spaltpilze für sich allein zu bilden vermag. Sterile Traubenzuckerlösung, mit zwei bestimmten Spaltpilzarten gleichzeitig inficirt, wurde, wie Nencki beobachtete, viel rascher und energischer zersetzt als durch jeden der beiden Spaltpilze allein. Andererseits beobachtete Nencki, dass Reinculturen zweier Mikroben, von denen jeder z. B. Eiweiss energisch zersetzte, wenn sie gleichzeitig in dieselbe Eiweisslösung eingeimpft wurden, in ihrer Gährtüchtigkeit sich gegenseitig abschwächten. Nencki spricht die Vermuthung aus, dass Analogien zwischen diesen Vorgängen und denen im inficirten Thierkörper möglicherweise häufig statthaben.

malige Infectionserreger in den Körper aufgenommen. „Contagiös“ nennt man aber nur solche Krankheiten, während deren Verlauf normaler Weise der Infectionserreger in infectionstüchtigem Zustande aus dem Körper des Erkrankten ausgeschieden wird, so dass die Möglichkeit gegeben ist, dass er durch die Vermittelung der Luft (wie bei den Pocken) oder an bestimmten Gegenständen haftend und durch Vermittelung dieser übertragen (wie bei der Cholera) in einen neuen Organismus gelangt und diesen inficirt. Nicht contagiös ist z. B. die Malaria; denn hier findet eine Ausscheidung infectionstüchtiger Parasiten aus dem erkrankten Körper nicht statt; bei der Malaria liegt die Möglichkeit der natürlichen „Ansteckung“ eines Falles durch den anderen nicht vor. Nur auf besondere künstliche Weise kann bei den nicht contagiösen Krankheiten die Uebertragung des Erregers von dem Kranken auf den Gesunden, die Inficirung eines Falles direct durch einen anderen, geschehen. Bei der Malaria kann man dies dadurch bewerkstelligen, dass man Blut des Erkrankten dem Gesunden einverleibt.[1])

Bei den Infectionskrankheiten kann die Einwanderung des Erregers in den Organismus, die Infection, auf verschiedenen Wegen erfolgen. Handelt es sich um „natürliche Infection“, so können die Bakterien durch den Mund in Magen und Darm gelangen und von dort aus in den Organismus einwandern, oder sie können mit der Athmungsluft in die Lunge aufgenommen werden und dann weiter in den Körper eindringen, oder sie können durch Verletzungen der Haut[2]) oder der Schleimhäute in den Körper gelangen und dann auf dem Wege der Lymph- und Blutgefässe sich weiter verbreiten. Eine dieser drei Infectionsarten trifft bei der allergrössten Mehrzahl der natürlichen Infectionen zu. In Ausnahmefällen giebt es auch noch andere Infectionspforten; und wenn wir im Laboratorium Versuchsthiere[3]) künstlich inficiren, so benutzen wir ausser den oben angeführten drei Wegen in der That häufig noch andere.

Die verschiedenen Infectionsmodi, die künstlich zur Anwendung gelangen, sind: die cutane Einverleibung des Materials

---

[1]) Eingehenderes über Contagiosität siehe bei Flügge (Die Mikroorganismen, Leipzig 1886. p. 596 ff. und Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 170).

[2]) Unter Umständen können Bakterien auch durch die unverletzte Haut in den Körper eindringen. Nach Garrè (Fortschr. d. Med. 1885. p. 173) nimmt z. B. beim Furunkel die Staphylococcen-Infection ihren Weg gewöhnlich durch die Ausführungsgänge der Hautdrüsen hindurch.

[3]) Die am meisten benutzten Species sind Mäuse (weisse und graue Hausmäuse, Feldmäuse), Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen, Tauben.

(„Impfung" im engeren Sinne), die subcutane[1]), intramusculare, intravenöse[2]), intraoculare[3]), intrapleurale[4]), intraperitoneale[5]) Einverleibung, die Einverleibung in den Magen[6]),

[1]) Mäuse kann man ohne Assistenz sehr bequem in folgender Weise subcutan inficiren: Man disponirt zunächst das dem Thiere einzubringende Culturmaterial so, dass man es nachher bequem mit der rechten Hand allein erlangen kann. Dann nimmt man die Maus mit der „Mäusezange" (modificirte Tiegelzange) aus dem Käfig am Schwanze (Feldmäuse an den Ohren) heraus und setzt sie auf ein Tuch, in welches man nun die Maus so einhüllt, dass nur der Schwanz und der angrenzende Theil des Rückens heraussieht. Nun bringt man das Tuch mit der Maus in die linke Hohlhand, indem man die Schwanzwurzel fest zwischen linkem Daumen und Zeigefinger fixirt. Der untere, freie Theil des Mauserückens liegt dann in dem von Daumen und Zeigefinger umschlossenen Raum frei zu Tage. Diesen Theil des Mauserückens benutzt man als Operationsfeld. Man entfernt hier mit einer Schere die Haare und kann nun, indem man eine Stelle der Haut zwischen die Scherenbranchen klemmt, mit der Schere leicht einen kleinen Hautdefect herstellen, der dann mit einer ausgeglühten, nicht zu spitzen Pincette zu einer Hauttasche erweitert wird. In die letztere wird das Impfmaterial eingetragen. Nach beendeter Operation fasst man die Maus mit der Zange am Schwanzende, zieht sie aus Tuch und Hand heraus und setzt sie in den Käfig zurück.

[2]) Bei grösseren Thieren (grossen Kaninchen z. B.) verfährt man behufs der intravenösen Einverleibung sehr bequem so, dass man (nach dem Vorgange von Aufrecht) das Material mit Hülfe einer feinspitzigen Pravaz-Canüle in eine Ohrvene injicirt, die man vor dem Einstich durch einen Gehülfen central compriміren lässt und so zur Anschwellung bringt. Die zu injicirende Bakterienaufschwemmung muss vorher (zur Entfernung gröberer Partikel) durch feine Gaze filtrirt werden (cf. R. Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 73).

[3]) Die künstliche intraoculare Infection (Einbringung des Materials in die vordere Augenkammer) ist von Cohnheim angegeben worden. Die Operation wird meist bei Kaninchen vorgenommen. Man kann so vorgehen, dass man am oberen Rande der Cornea einen mehrere Millimeter langen Einschnitt macht und durch diesen hindurch das Impfmaterial (Bröckchen einer Cultur etc.) einbringt, oder dass man mit einer sehr feinen und scharfen Canüle einen Einstich durch die Cornea in die Vorderkammer hinein macht und dann direct ein Tröpfchen der Bakterienaufschwemmung injicirt (cf. R. Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 68). Die intraoculare Infection ist deshalb von besonderem Werthe, weil man die an die Infection sich anschliessenden pathologischen Veränderungen durch die Cornea hindurch direct beobachten und verfolgen kann.

[4]) Hat man kleine Thiere (z. B. Mäuse) intrapleural zu inficiren, so muss man die rechte Seite wählen, weil man links gewöhnlich das Herz trifft.

[5]) Wichtig ist es, bei dieser Operation eine Verletzung der Därme zu vermeiden. Bei Meerschweinchen, Ratten, Mäusen, Katzen gelingt dies nach R. Koch (Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 71) leicht, wenn man die Canüle langsam durch die Bauchdecken treibt. Kaninchen sind wegen des stark gefüllten Blinddarms für die Operation weniger geeignet.

[6]) Bei Meerschweinchen lässt sich das Infectionsmaterial mit Hülfe eines feinen elastischen Katheters, der durch einen durchbohrten, zwischen den Zahnreihen des Thieres eingeklemmten Knebel hindurch geschoben wird, leicht in den Magen einflössen.

in das Duodenum, die Einbringung durch Inhalation, die intratracheale, intrapulmonale Injection, die intracranielle (subdurale) Einverleibung (Application des Materials nach Trepanation unter die Dura), die Injection in grosse Nerven hinein. Ist mit der künstlichen Einverleibung des Infectionsmateriales in den Thierkörper eine Verletzung der Gewebe verbunden (und das ist, wenn man die Einverleibung in den Magen und die Einbringung durch Inhalation ausnimmt, stets der Fall), so muss man selbstverständlich so operiren, dass das Eindringen anderer Infectionskeime streng vermieden wird. Die Operationsstelle wird deshalb zunächst von eventuell vorhandenen Haaren befreit, dann mit Sublimatlösung, hinterher mit Alcohol und dann mit Aether abgewaschen. Alle zur Operation gebrauchten Instrumente werden in durch Hitze desinficirtem Zustande angewendet. Flüssiges Material (Culturaufschwemmungen in sterilisirtem Wasser etc.) bringt man am besten mit Hülfe einer aus Glas und Metall construirten, mit feiner Canüle versehenen, durch Hitze sterilisirbaren Spritze, wie sie in verschiedener Construction von R. Koch[1]) und Anderen angegeben ist, in das Innere der Gewebe hinein.

Soll die Pathogenität einer bestimmten reingezüchteten Bakterienart sicher gestellt werden, so muss man bei dem Thierversuche zunächst möglichst wenig von dem Bakterienmaterial in den Organismus des Versuchsthieres übertragen; denn es ist gar nicht zu vermeiden, dass mit den Bakterienzellen zugleich eine Quantität der von den Bakterien in der Cultur producirten chemischen Stoffwechselproducte übertragen wird. Unter diesen Stoffwechselproducten befinden sich häufig Körper von hoher Giftigkeit (giftige Ptomaïne [Toxine] und andere giftige [Eiweiss- etc.] Körper)[2]), die, in etwas grösseren Mengen mit den Bakterien zugleich übertragen, Vergiftungen veranlassen und dann das Resultat des Thierversuches sehr stören, eventuell auch zu den fehlerhaftesten Schlussfolgerungen Veranlassung geben können, indem man nämlich die Erkrankung des Thieres als Folge einer Infection ansieht, während sie doch der Ausdruck einer Intoxication war. Eine Infection ist nur dann vorhanden, oder, was dasselbe sagt, die eingeführten Bakterien sind nur dann als pathogene zu betrachten, wenn sie sich auf Kosten des Organismus vermehren.

Es liegt jedoch in der Natur der Sache, dass wohl mit jeder Infection eine Intoxication verbunden ist. Man könnte sich

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 17; Bd. 2. 1884. p. 60; Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a. p. 1029.

[2]) cf. oben p. 41.

allerdings Infectionskrankheiten denken, bei denen eine so massenhafte Vermehrung der Bakterien im Blute stattfindet, dass die Bakterien schliesslich ein physikalisches Hinderniss für den Blutumlauf abgeben, dass das Thier rein und ausschliesslich an der Vermehrung der Bakterien stirbt. Ob eine solche Vermehrung aber in der That möglich ist, ohne dass dabei auf das Thier irgendwie schädlich einwirkende und den Verlauf der Erkrankung beeinflussende Stoffwechselproducte gebildet werden, ist sehr die Frage. In den allermeisten Fällen von Infection tragen die giftigen Stoffwechselproducte, welche die Bakterien bei ihrem Wachsthum im Thierkörper bilden, sehr wesentlich das Ihrige zu der gesammten Erkrankung bei. Immerhin verhalten sich die pathogenen Bakterien bezüglich ihrer Giftwirkung ganz verschieden unter einander. Es giebt Bakterienarten — und zu diesen gehören z. B. der Tetanusbacillus und der Diphtheriebacillus —, die Gifte von so fabelhafter, so ungeheurer Wirksamkeit produciren, dass in den entsprechenden Krankheiten die Wirkung dieser Gifte auf den Organismus das Krankheitsbild völlig bestimmt. Die Bakterien selbst finden sich in Tetanus- und in Diphtheriefällen gewöhnlich nur an einer kleinen, circumscripten Stelle im Körper (der Infectionsstelle) in Vermehrung. Hier werden die furchtbaren specifischen Gifte gebildet, die dann in den Körper hinein resorbirt werden und die schweren Allgemeinsymptome der genannten Krankheiten bedingen. Man bezeichnet derartige Bakterienarten als „toxische Bakterien“ im Gegensatz zu den oben genannten Arten, welche wesentlich durch ihre Vermehrung als solche wirken, und die man auch wohl als „infectiöse“ Bakterien im engeren Sinne oder als „septicaemische“ Bakterien bezeichnet.

Wie schon gesagt, zeigen sich die Bakterien bei den verschiedenen Infectionskrankheiten im Körper des Thieres verschiedenartig localisirt. Auch bei einer und derselben Krankheit kann je nach dem verschiedenen Modus der Infection, der verschiedenen Lage der Infectionspforte, die Localisation der Bakterien im Körper, und damit auch der Krankheitsverlauf, verschieden sein. Wählen die Bakterien das Blut als den Ort ihrer Vermehrung, sind sie bei der Section in den Blutgefässen und, abgesehen von den besonderen Veränderungen der Infectionsstelle und der ersten Verbreitungswege, überall im Blute und nur im Blute zu finden, so bezeichnet man eine solche (schnell tödtlich verlaufende) Erkrankung nach Davaine und Koch[1]) als „Septicaemie“. Bei der Septicaemie finden sich Herdbildungen, Metastasen, nicht.

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 84.

In anderen Fällen schnell verlaufender allgemeiner Infection des Körpers kommt es in Folge der Vermehrung der Bakterien im Blute zur Bildung (eitriger) Herde in den inneren Organen, zur Metastasenbildung. Dann bezeichnet man den Process als „Pyaemie“. Nach Koch[1]) hat man sich die erste Entstehung der Herde so vorzustellen, dass die im Blut sich vermehrenden Bakterien in grösseren Haufen zusammenhängen bleiben und, mit Blutkörperchen zusammenklebend, Embolisirung enger Blutgefässe und Thrombenbildung veranlassen.

Diesen Fällen allgemeiner Verbreitung des Infectionserregers im Körper gegenüber stehen andere Fälle, in denen die Verbreitung der Bakterien auf gewisse Gebiete oder Organe des Körpers beschränkt ist. So finden wir z. B. bei der Cholera die Erreger nur im Darme und in der Darmwand, sonst nirgends, bei dem Wundstarrkrampf (Tetanus), bei der Diphtherie finden wir sie (wie bereits oben angeführt) nur an der Infectionsstelle und in ihrer nächsten Umgebung. Es ist klar, dass die schweren Allgemeinsymptome dieser Krankheiten nicht directe Folge der Bakterienvermehrung sein können, sondern dass die durch die Bakterien gebildeten giftigen chemischen Körper es sind, welche, von der Vermehrungsstelle der Bakterien aus in den Körper eingedrungen, diese Symptome veranlassen. Bleiben die Bakterien localisirt, so kann, wie bei den eben genannten Krankheiten, eine Genesung des Körpers eintreten. Bei manchen localen Infectionen ist der Ausgang in Genesung die Regel; dies sehen wir z. B. an den in unserer Haut so oft auftretenden Furunkelbildungen, die ihre Entstehung einer localen Hautinfection durch Bakterien verdanken. [2]) Bei Ueberschwemmung der gesammten Blutbahn mit den Infectionserregern ist Genesung sehr selten.

Die nahen Beziehungen zwischen Infection und Intoxication lassen übrigens eine Thatsache erklärlich erscheinen, die man ohne die Kenntniss dieser Beziehungen schwer verstehen könnte. Es hat sich nämlich gezeigt, dass unter Umständen zwar, bei gewissen Infectionskrankheiten und bei bestimmten Thierspecies, die kleinste

---

[1]) Pyaemie bei Kaninchen. Unters. über die Aetiologie der Wundinfections-Krankheiten. Leipzig 1878. p. 54 ff.

[2]) Zu den localen Infectionen gehört auch die Zahncaries, welche nach den Ermittelungen von W. D. Miller (Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1889; 2. Aufl. Leipzig 1892) dadurch zu Stande kommt, dass zunächst eine Entkalkung des Schmelzes resp. des Zahnbeins durch saure Flüssigkeiten (saure Gährungsproducte) eintritt, und dass dann das entkalkte Zahnbein, die leimgebende Grundsubstanz desselben, von (verflüssigenden) Bakterien befallen wird, welche die Erweichung und Zerstörung derselben bewirken. Ueber die Bakterienarten, welche hierbei eine Rolle spielen, cf. die Inaug.-Diss. von C. Jung, Berlin 1892.

Quantität des Infectionsmaterials, eine einzige Bakterienzelle, genügt, um die Infection zu bewerkstelligen. In anderen Fällen genügt dies durchaus nicht; man muss, um die Infection zu erzielen, grössere Quantitäten des infectiösen Materials dem Thierkörper einverleiben. Ohne Zweifel sind in solchen Fällen die in den Körper zugleich mit einverleibten giftigen Stoffwechselproducte wesentlich mitbetheiligt an dem Zustandekommen der Infection, indem sie die — von Natur, wie wir weiterhin noch sehen werden, äusserst bakterienfeindlichen — Gewebssäfte des Körpers schädigen und weniger widerstandsfähig machen gegen die eindringenden Bakterien.[1])

Es ist hier der Ort, auf die Verhältnisse einzugehen, welche für das Zustandekommen resp. das Ausbleiben der Erkrankung nach der Einführung von Infectionserregern in den Thierkörper wesentlich bestimmend sind. Wir werden besonders die auf Immunität und Schutzimpfung bezüglichen Fragen einer Betrachtung zu unterwerfen haben.

Wenn ein thierischer Organismus für eine bestimmte Infectionskrankheit unempfänglich ist, so nennt man ihn „immun“ gegen diese Krankheit. Man sagt auch, er verhalte sich refractär gegen die Einverleibung des bestimmten Infectionserregers. Die Immunität gegen eine bestimmte Krankheit kann, wie wir bereits oben (p. 164) angedeutet haben, eine allgemeine Eigenschaft aller Mitglieder der betreffenden Thierspecies sein; man spricht in diesem Falle von der natürlichen Immunität der Species. Sie kann aber auch einzelne Individuen einer im Uebrigen für die bestimmte Infectionskrankheit empfänglichen Thierspecies betreffen. In dem letzteren Falle handelt es sich um individuelle Immunität.

Die individuelle Immunität kann unbekannte Ursachen haben; sie kann aber auch — auf natürliche oder künstliche Weise — erworben sein. Wenn ein Kind Scharlach überstanden hat, so ist es in der Regel für das weitere Leben gegen eine erneute Scharlacherkrankung gefeit. Hier haben wir es mit einer zufälligen, natürlichen Immunisirung zu thun. Die Immunisirung kann

[1]) Hiermit in Einklang steht die wichtige Entdeckung von A. Gottstein (Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 24), dass unter Umständen Thiere, die sich gegen einen bestimmten Krankheitserreger unter normalen Verhältnissen vollständig refractär verhalten, durch Einverleibung blutkörperchenzerstörender Substanzen für diesen Erreger empfänglich gemacht werden können. — Hierhin gehört auch die häufiger gemachte Beobachtung, dass eine bestimmte einzelne pathogene Bakterienart, in kleiner Quantität dem Thierkörper einverleibt, die Infection nicht zu Wege bringt, dass die letztere aber sofort erfolgt, wenn daneben noch eine bestimmte andere Art, die durchaus nicht pathogen zu sein braucht, mit einverleibt wird.

aber auch absichtlich, künstlich zu Stande gebracht werden, und zwar durch Einverleibung eines bestimmten, je nach den verschiedenen Krankheiten verschiedenen Impfstoffes, eines „Vaccin", in den Organismus.

Bekanntlich wird seit beinahe hundert Jahren die (von Jenner eingeführte) Schutzimpfung gegen die Menschenpocken geübt. Es handelt sich hier um eine rein empirische Sache. Man hatte beobachtet, dass Menschen, die sich mit dem Inhalte der Kuhpocken inficirten, eine leichte Erkrankung bekamen, und dass das Ueberstehen dieser leichten Erkrankung Immunität verlieh gegen die Infection mit den Menschenpocken. Es liegt hier eine merkwürdige, aber uns leider noch völlig dunkle Beziehung zwischen zwei von einander verschiedenen Krankheiten vor. Wir wissen nur, dass diese Beziehung existirt. Wir erzeugen bei der Kuh oder beim Kalb durch Impfung absichtlich eine Infectionskrankheit; wir entnehmen von dem kranken Thiere Krankheitsstoff und impfen denselben dem menschlichen Organismus ein; wir sehen, dass der letztere danach erkrankt; aber wir sehen diese Erkrankung sehr gern, weil wir wissen, dass das Ueberstehen derselben den Organismus schützt vor einer weit gefährlicheren Krankheit. Wir thun dies alles, trotzdem wir weder den Erreger der Kuhpocken noch den der Menschenpocken kennen, und trotzdem alle Anstrengungen der letzten Jahre, dieser Erreger, die doch sicher existiren, habhaft zu werden, bisher gescheitert sind (cf. p. 171). Wie dem aber auch sei, jedenfalls ist hier die Immunität gegen die eine Krankheit durch das Ueberstehen einer anderen — mit der ersten vielleicht nahe verwandten — Krankheit, die durch künstliche Impfung erzeugt wurde, hervorgebracht worden.

In anderen Fällen, und zwar, wie wir weiter sehen werden, bei einer Reihe von Infectionskrankheiten, deren Erreger wir genau kennen, geschieht die Immunisirung nach dem Vorgange von Pasteur durch Einverleibung des Erregers derselben Krankheit, gegen die wir den Organismus schützen wollen. Die Eigenschaften des in den Organismus einzubringenden Krankheitserregers müssen hier jedoch in der Weise abgeändert sein, dass eine verderbenbringende Infection nicht etwa durch die Impfung selbst schon erfolgt.

Die erste Entdeckung auf diesem Gebiete wurde 1880 von Pasteur gemacht. Pasteur fand, dass Hühner — welche bekanntermassen für die Infection mit den „Hühnercholerabakterien" im höchsten Grade empfänglich sind und nach der Einverleibung dieser Bakterien in ihren Körper ausnahmslos an einer schweren Allgemeinerkrankung, der Hühnercholerasepticaemie, sterben — nur local und vorübergehend

erkranken, wenn man ihnen solche Hühnercholerabakterien unter die Haut bringt, die in den künstlichen Culturen bereits längere Zeit (eine Reihe von Monaten) sich selbst überlassen gestanden haben. Nach dem Ueberstehen dieser localen Erkrankung zeigten sich die Hühner gegen die Impfung mit den wirksamsten, frischesten Hühnercholerabakterien immun. Durch das längere Stehen der ursprünglich so verderbenbringenden Bakterienculturen haben dieselben demnach an ihrer Giftigkeit für den Organismus des Huhns, an ihrer „Virulenz", erheblich eingebüsst.

Man nennt so veränderte Culturen, so veränderte Bakterien abgeschwächt; und es hat sich in der Folge gezeigt, dass eine solche Abschwächung, ein solcher Verlust der Virulenz ursprünglich virulenter Bakterien nicht allein bei den Erregern der Hühnercholera, sondern bei den meisten pathogenen Bakterienarten beobachtet werden kann. Ebenso hat es sich weiterhin auch gezeigt, dass die Impfung mit abgeschwächtem Material bei einer ganzen Reihe von Infectionskrankheiten Immunität hervorbringt gegen die Impfung mit virulentem Material.

Durch welche Einflüsse werden aber virulente Bakterien abgeschwächt? Was diese Frage angeht, so giebt es eine ganze Anzahl Methoden, mit Hülfe deren man virulente Bakterien abzuschwächen vermag. In dem vorher erwähnten Falle der Hühnercholera war es das längere Stehen der Culturen, welches die Abschwächung zu Wege brachte; und Pasteur war der Ansicht, dass der lange dauernde Einfluss des atmosphärischen Sauerstoffs wesentlich dabei betheiligt sei.

Ausserdem ist es eine bei vielen pathogenen Bakterienarten gemachte Beobachtung, dass die Virulenz geschädigt wird, wenn die Bakterien längere Zeit auf künstlichem Nährboden weitergezüchtet werden, ohne den Thierkörper zu passiren.[1])

Ferner giebt es eine Reihe von chemischen Körpern (sehr dünne Lösungen von Kaliumbichromat, von Schwefelsäure, von Carbolsäure etc.), die, mit virulenten Bakterienculturen längere oder kürzere Zeit in Berührung, dieselben abschwächen.

Auch ein längeres Austrocknen kann abschwächend wirken.

---

[1]) Es ist deshalb im Laboratorium behufs der Erhaltung der Virulenz bei pathogenen Bakterienculturen die Regel, dieselben — in nicht zu langen Zwischenpausen — ab und zu durch den Körper empfänglicher Versuchsthiere zu schicken. Dadurch erhält sich nicht allein die Virulenz; sie wird sogar häufig gesteigert. Und wenig virulente Culturen können auf diese Weise gelegentlich wieder zur vollen Virulenz zurückgebracht werden.

Von ganz besonderer Bedeutung aber haben sich in dieser Beziehung thermische Einflüsse gezeigt. Eine kurz dauernde Erwärmung auf höhere Temperaturgrade (bei Milzbrandbacillen z. B., wie Toussaint 1880 fand, 10 Minuten langes Erwärmen auf 55° C.) wirkt unter Umständen abschwächend ein. Noch sicherer wirkt in manchen Fällen die Cultivirung der Bakterien bei Temperaturen, die zwar erheblich niedriger als die eben genannten sind, aber doch nahe an der Grenze liegen, unterhalb deren die betreffende Bakterienspecies überhaupt noch zu wachsen vermag.

Ausserdem beobachtet man eine Abschwächung mitunter auch dann, wenn man die Bakterien durch einen für sie wenig geeigneten Thierkörper passiren lässt. Pasteur hat z. B. gefunden, dass die Schweinerothlaufbacillen, welche für junge Schweine edler Rassen ein äusserst gefährliches infectiöses Material bilden, die Virulenz für Schweine verlieren, wenn man sie zunächst Kaninchen einimpft und dann aus dem Kaninchenkörper weiter cultivirt.

Alles in Allem pflegen Abschwächungsvorgänge also dann einzutreten, wenn man virulente Bakterien in Aussenverhältnisse versetzt, welche ihnen ungünstig sind und ihrer eigentlichen Natur wenig entsprechen.

Was ist nun das Wesen der Abschwächung? Wie unterscheiden sich abgeschwächte Bakterien, abgesehen von der Veränderung der Virulenz, von gleichnamigen virulenten Bakterien? Durch umfangreiche Versuche, welche Smirnow[1]) in dem Institut von Flügge angestellt hat, hat sich als ziemlich allgemein zutreffend die Thatsache herausgestellt, dass der Verlust der Virulenz mit einer allgemeinen Degeneration der Bakterien verbunden ist. Die abgeschwächten Bakterien wachsen auf dem künstlichen Nährboden im Allgemeinen langsamer als die virulenten, die sporenbildenden unter ihnen zeigen sich in der Sporenbildung verlangsamt, dis abgeschwächten Culturen sind in jeder Beziehung weniger kräftig als die virulenten Culturen. Es muss jedoch bemerkt werden, dass das genannte Gesetz ganz allgemein gültig doch nicht ist. So befinden sich, wie Behring[2]) mitgetheilt hat, im Koch'schen Institute Milzbrandbacillenculturen, welche bei erheblichster Abschwächung ihrer Virulenz in ihren sonstigen Fähigkeiten, in der Schnelligkeit des Wachsthums, der Sporenbildung etc. sich wie die kräftigsten, virulentesten Milzbrandculturen verhalten.

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 137.

Es ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass eine einmal eingetretene Abschwächung sich bei fortgesetzten Uebertragungen in immer frischen Nährboden hinein entweder dauernd [1]) oder doch für längere oder kürzere Zeit zu erhalten pflegt; d. h. die einmal durch ungünstige äussere Verhältnisse modificirten Bakterien erlangen bei Wiederherstellung günstigster Culturbedingungen ihre früheren normalen Eigenschaften durchaus nicht sofort, mitunter sogar überhaupt nicht, wieder.

Durch die Impfung mit abgeschwächten Infectionsstoffen hat man nun gegen eine ganze Reihe von Krankheiten künstliche Immunität zu erzeugen vermocht. Ausser der Hühnercholera war es zunächst der Milzbrand, gegen den eine künstliche Immunisirung durch Einimpfen in bestimmter Weise künstlich zubereiteter Vaccins ermöglicht wurde. Toussaint erhielt durch 10 Minuten lange Erwärmung virulenter Milzbrandbacillen (Blut von Milzbrandthieren) auf 55° C. Vaccins. Pasteur stellt sich seine Vaccins dar durch Cultivirung der Milzbrandbacillen in Bouillon bei einer Temperatur zwischen 42 und 43° C. Auch für den Rauschbrand, eine in vielen Gegenden häufig vorkommende Krankheit der Rinder, wurde, und zwar durch Arloing, Cornevin und Thomas, eine künstliche Immunisirung aufgefunden. Die genannten Autoren erhitzten das getrocknete, sehr infectiöse Fleisch der an Rauschbrand verendeten Thiere auf 100° C. und erzielten dadurch einen Vaccin. Gegen den Schweinerothlauf kann man nach der Entdeckung Pasteur's Schweine dadurch immunisiren, dass man ihnen Schweinerothlaufbacillen einverleibt, die in der oben (p. 180) angegebenen Weise durch das Passiren des Kaninchenkörpers abgeschwächt wurden. Endlich kann man auch, wie ebenfalls Pasteur gefunden hat, gegen die Hundswuth, deren Erreger wir im Uebrigen noch ganz und gar nicht kennen, Hunde durch Einimpfung abgeschwächten Infectionsmaterials immunisiren. Die Abschwächung wird in diesem Falle dadurch bewerkstelligt, dass man kleine Stücke der nervösen Centralorgane an Hundswuth verendeter Thiere, in welchen das noch unbekannte Gift der Hundswuth enthalten ist, längere oder kürzere Zeit in trockener Luft der Austrocknung überlässt.

Fassen wir nun diejenigen Krankheiten ins Auge, deren Erreger bekannt sind, und bei denen durch Einimpfung der abgeschwächten Bakterien eine künstliche Immunisirung des Thierkörpers gegen die Infection mit virulenten Bakterien erfolgt, so drängen sich uns mehrere

[1]) Damit die Abschwächung eine dauernde bleibt, ist es nach Roux (7. internat. Congr. f. Hyg. u. Demogr. London 1891. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. p. 649) nothwendig, dass der Abschwächungsprocess langsam vor sich geht.

Fragen auf: Was wird im Thierkörper aus den demselben eingeimpften abgeschwächten Bakterien? Welche Veränderungen erleidet der Thierkörper bei dem Immunisirungsacte? Wodurch wird er in den Stand gesetzt, die Einimpfung virulenten Materials schadlos zu ertragen? Was geschieht mit den dem immunen Thiere eingeimpften virulenten Bakterien?

Stellen wir uns behufs der Beantwortung dieser Fragen zunächst eine Vorfrage: Was wird überhaupt aus irgend welchen Bakterien, die dem Thierkörper einverleibt werden? Vermag der Organismus die Bakterien etwa auf dem Wege der Nieren, des Darms, der Haut etc. auszuscheiden? Nun, dies ist im Allgemeinen nicht der Fall.[1]) Wenn es sich um solche Bakterien handelt, welche für die betreffende Thierspecies nicht pathogen, also unschädlich sind, so verschwinden dieselben nach dem Einbringen in den Thierkörper in kürzester Frist spurlos. Sie werden von den Säften des Körpers direct abgetödtet (cf. p. 184) und dann, eventuell unter Vermittelung gewisser Zellen (Gefässendothelien in Milz, Leber und Knochenmark), aufgelöst und endgültig vernichtet. Handelt es sich hingegen um Bakterien, die für die betreffende Thierspecies pathogen sind, so beobachtet man zunächst zwar auch eine gewisse Schädigung der Bakterien im Thierkörper; dann jedoch gelangen die Bakterien zur Vermehrung; d. h. das Thier erkrankt, um schliesslich an der Infection zu Grunde zu gehen, der Uebermacht der Bakterien zu erliegen.[2])

Die Frage, was denn aus abgeschwächten Bakterien werde, die dem für die gleichnamigen virulenten Bakterien empfänglichen Thierkörper einverleibt werden, ist nun ebenso leicht zu beantworten wie die andere Frage, was denn aus den virulenten Bakterien werde, die dem künstlich gegen die Infection immun gemachten Thierkörper eingeimpft werden. In beiden Fällen nämlich tritt in kürzester Zeit eine vollständige Vernichtung des eingeführten Bakterienmateriales ein. Dasselbe verschwindet spurlos.[3])

Anders jedoch steht es mit der Beantwortung der Frage, in welcher Weise der Thierkörper bei der Immunisirung verändert wird; welche Vorgänge schliesslich der Grund sind, dass der Körper die spätere Einführung virulenten Infectionsstoffes unbeschädigt übersteht. Es sind zur Erklärung dieser Dinge eine ganze Reihe von Hypothesen

---

[1]) In einzelnen Fällen ist Ausscheidung pathogener Bakterien durch Nieren, Darm, Haut etc. beobachtet.

[2]) cf. Flügge-Wyssokowitsch. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

[3]) cf. Flügge-Bitter, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888. p. 299 ff. — Emmerich und di Mattei, Fortschr. d. Med. 1888. No. 19.

aufgestellt worden. Die „Erschöpfungshypothese“ von Klebs und Pasteur, eine Hypothese, welche heute wohl völlig verlassen ist, nahm an, dass bei der Immunisirung eine Erschöpfung des Körpers an gewissen für die Bakterien nothwendigen Nährstoffen eintritt, und dass in Folge dieser Erschöpfung die späterhin in den Körper eindringenden virulenten Bakterien in demselben nicht zu gedeihen vermögen. Eine andere Hypothese, die „Retentionshypothese“ Chauveau's, nimmt an, dass bei der Immunisirung gewisse Stoffwechselproducte der Bakterien in dem Thierkörper zurückgehalten werden, die eine spätere Ansiedelung virulenter Bakterien verhindern. Wir werden sehen, dass diese Hypothese der Sache viel näher kommt. Eine dritte Hypothese, welche Metschnikoff auf seine Phagocytentheorie gegründet hat, nimmt an, dass gewisse Körperzellen, nämlich die weissen Blutkörperchen und grössere Organzellen (Phagocyten), denen die Phagocytentheorie überhaupt die Fähigkeit zuspricht, Bakterien activ anzugreifen und „aufzufressen“, bei dem Immunisirungsacte sich in der Bakterienvernichtung an den abgeschwächten Bakterien üben und hierdurch die Fähigkeit erlangen, die später in den Körper eindringenden virulenten Bakterien ebenfalls zu vernichten.

Die genannten Hypothesen waren sämmtlich aufgestellt worden zur Verständlichmachung der Vorgänge, die bei der künstlichen Immunisirung durch Einverleibung abgeschwächten Bakterienmaterials in den Körper statthaben. Ganz neue Gesichtspunkte aber wurden geschaffen durch die Entdeckung von Salmon und Smith (1887), dass eine Immunisirung auch möglich ist ohne die Mitwirkung lebenden Bakterienmaterials, d. h. dass es eine Immunisirung auf rein chemischem Wege giebt. Den genannten Autoren gelang es, Tauben gegen Hog-Cholera (amerikanische Schweineseuche) zu immunisiren durch Einverleibung der bakterienfreien, gelösten Stoffwechselproducte[1]) von Hog-Choleraculturen. Diese Entdeckung, welcher eine

---

[1]) Die bakterienfreien Stoffwechselproducte werden dadurch erhalten, dass man die Bakterienculturen unter Druck durch (unglasirtes) Porcellan filtrirt (Pasteur-Chamberland'sche Porcellanfilter, Porcellankerzen), wobei die Bakterien als feste Theile zurückbleiben, oder dass man die Culturen durch stärkere Erhitzung von den lebenden Bakterien befreit. — Einfache Apparate, bei welchen die Filtration (unter Zuhülfenahme einer Wasserstrahl-Luftpumpe durch Porcellan (Thon) geschieht, construirten Kitasato (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. p. 269) sowie Reichel (Sitz.-Ber. d. Phys.-Med. Gesellsch. zu Würzburg. 1891. p. 44). Der letztere Apparat wird von R. Muencke in Berlin fabricirt. — Bitter (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891) hat die aus gebrannter Infusorienerde bestehenden sog. „Berkefeld“-Filter für diesen Zweck empfohlen. Kirchner (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893) findet die Berkefeld-Filter nicht zuverlässig.

Reihe analoger Beobachtungen von anderen Seiten[1]) sehr bald folgten, warf mit einem Schlage die ganze Frage der künstlichen Immunisirung auf das chemische Gebiet hinüber. Es war durch diese Entdeckungen der sichere Nachweis erbracht, dass — wenigstens in den beobachteten Fällen — eine chemische Veränderung der Säfte des Körpers bei resp. nach dem Immunisirungsacte stattfindet, welche den Körper resistent macht gegen den Angriff des virulenten Bakterienmaterials.[2])

Fast zu gleicher Zeit mit der Entdeckung der chemischen Immunisirung wurden Thatsachen bekannt, die sich zwar lediglich auf die normalen, unveränderten Körpersäfte bezogen, die aber doch die Ermittelungen über die Möglichkeit der chemischen Immunisirung nur zu stützen geeignet waren. Es wurde nämlich — die erste derartige Beobachtung stammt von Fodor[3]) (1887) — constatirt, dass die Säfte des normalen lebenden Körpers, speciell das Blut, bakterienvernichtende Eigenschaften besitzen. Der Vorgang, den man experimentell beobachten kann, ist im Allgemeinen der, dass das Bakterienmaterial, welches in frisch aus der Ader entnommenes Thierblut eingebracht wird, zunächst erheblich geschädigt wird in der Weise, dass ein grosser Theil der Bakterienzellen abgetödtet wird. Erst nach einer Reihe von Stunden lässt die bakterientödtende Kraft des Blutes nach; und dann vermögen sich die event. entwickelungsfähig gebliebenen Bakterienzellen auf Kosten des unwirksam gewordenen (todten) Blutes zu vermehren. Um die experimentelle Feststellung der bakterienfeindlichen („bactericiden", „microbiciden") Eigenschaften der normalen thierischen Körpersäfte, speciell des Blutes, haben sich ausser Fodor besonders Nuttall[4]) (im Flügge'schen Institut), Behring[5]) und H. Buchner[6]) verdient gemacht. Es

---

[1]) In demselben Jahre 1887, in welchem Salmon und Smith ihre Entdeckung machten, gelang eine Immunisirung auf rein chemischem Wege Foà und Bonome bei Kaninchen und Fröschen gegen Infection mit Proteus vulgaris und Proteus capsulatus; ferner gelang eine derartige Immunisirung gleichzeitig Chamberland und Roux bei Pferden, Eseln, Hammeln und Hunden gegen malignes Oedem, Roux bei Meerschweinchen gegen Rauschbrand.

[2]) Damit in Uebereinstimmung steht auch die Entdeckung von Wooldridge (Arch. f. Anatomie und Physiologie. 1888), dass sich aus dem normalen Thierkörper, ohne irgend welche Mitwirkung von Bakterien, Eiweiss- (Fibrinogen-) Lösungen herstellen lassen, deren Einverleibung Immunität gegen Infection mit virulentem Milzbrand hervorruft.

[3]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 34.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 4. 1888.

[5]) Centralbl. f. klin. Med. 1888. No. 38.

[6]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889. No. 25; Bd. 6. 1889. No. 1 und 21; Arch. f. Hyg. Bd. 10. 1890.

wurde hierbei gleichzeitig constatirt, dass die bakterienschädigende Eigenschaft des Blutes auch dem daraus gewonnenen Blutserum zukommt; und Buchner ermittelte (1889), dass im (zellenfreien) Blutserum enthaltene Eiweisskörper der Träger dieser Eigenschaft seien.[1]) Gleichzeitig wurde aber auch constatirt, dass nicht das Blut einer jeden Thierspecies auf jede beliebige Bakterienart schädigend einwirkt, sondern dass in manchen Fällen bactericide Vorgänge völlig vermisst werden.

Die Entdeckung dieser Thatsachen, der Nachweis, dass sich in den normalen thierischen Körpersäften Substanzen gelöst vorfinden, die für Bakterien Gifte sind, für den thierischen Körper aber nicht[2]), war — so ausserordentlich wichtig er principiell auch war — an und für sich noch nicht geeignet, den Zustand der Immunität zu erklären. Wenn nämlich die Immunität eines Individuums gegen eine bestimmte Infectionskrankheit auf dem Gehalt seiner Körpersäfte an Substanzen beruht, welche die eindringenden specifischen virulenten Bakterien schädigen und zerstören, so müssen diese bakterienschädigenden Substanzen in dem Körper eines empfänglichen Individuums fehlen. Eine derartige Beobachtung wurde allerdings, und zwar von Behring[3]) (1888), gemacht. Behring fand, dass das Blut der (von Natur gegen Milzbrand unempfänglichen) Ratte und das daraus hergestellte Serum milzbrandbacillenvernichtende Eigenschaften besitzen, während das Blut und das Serum der (für Milzbrand empfänglichen) Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Hammel und Rinder milzbrandbacillenvernichtende Fähigkeiten nicht im Geringsten besitzen, sondern einen guten Nährboden für den Milzbrandbacillus abgeben. Während nun in diesem Einzelbeispiele der Zustand der Immunität gegen eine bestimmte Infectionskrankheit mit dem Vorhandensein von Substanzen im Blutserum zusammenfällt, die auf die entsprechenden Bakterien schädigend wirken, andererseits der Zustand der Empfänglichkeit mit

---

[1]) Wie Buchner (l. c.) fand, verliert das Serum durch Dialysiren gegen Wasser (nicht durch Dialysiren gegen physiologische Kochsalzlösung), ferner durch einstündiges Erwärmen auf 55° C. oder durch sechsstündiges Erwärmen auf 52° C. seine Wirksamkeit. Die Untersuchungen wurden an Kaninchen- und Hundeblut mit Typhusbacillen angestellt.

[2]) Ganz richtig ist dies nicht. Wie Daromberg (Acad. des sciences. Paris. 19 oct. 1891; Arch. de méd. expér. et d'anat. pathol. 1891) fand, besitzt das normale Serum ‚blutkörperchenzerstörende („globulicide") Eigenschaft gegenüber den Blutkörperchen einer anderen Thierspecies. Hundeblutserum vernichtet z. B. Kaninchenblutkörper. Durch Erhitzen auf 50—60° C. geht die globulicide Fähigkeit (wie die bactericide [cf. die vorige Anmerkung]) des Blutserums verloren.

[3]) Centralbl. f. klin. Med. 1888. No. 38.

dem Mangel derartiger Substanzen im Blutserum verbunden ist, so hat sich eine derartige Beziehung zwischen Immunität und Eigenschaft des Blutserums durchaus nicht etwa als allgemein und gesetzmässig herausgestellt. Im Gegentheil: Die oben geschilderte Beobachtung von Behring beim Milzbrand hat sich als eine Ausnahme erwiesen, der nur ganz vereinzelte gleichnamige an die Seite gestellt werden können[1]). Bactericide Eigenschaften des Blutes resp. des Blutserums können demnach für die Erklärung des Zustandes der Immunität im Allgemeinen nicht herangezogen werden.

Weitere Studien auf diesem Gebiete, die zunächst Behring und seinen Mitarbeitern zu danken sind, haben jedoch eine ganz gesetzmässige Eigenschaft des Blutserums **künstlich** immunisirter Individuen erkennen lassen: Ist ein Individuum gegen eine bestimmte Infectionskrankheit künstlich immunisirt worden, so hat sein Blut und ebenso das daraus dargestellte Serum damit die Fähigkeit erlangt, den Zustand der Immunität auf ein für dieselbe Infectionskrankheit empfängliches Individuum (beliebiger Species), in dessen Organismus es — in genügender Quantität — eingebracht wird, zu übertragen (Behring'sches Gesetz).

Die erste hierher gehörige Mittheilung machten (1890) Behring und Kitasato[2]); sie bezog sich auf den Tetanus. Es war den Autoren gelungen, Kaninchen gegen Tetanus zu immunisiren. Das Blutserum der gegen Tetanus immunisirten Kaninchen, den (für Tetanus ausserordentlich empfänglichen) Mäusen einverleibt, machte die letzteren unempfänglich für Tetanus. Der Tetanusbacillus gehört, wie bereits oben (p. 175) auseinandergesetzt wurde, zu den toxischen Bakterienarten. Dringen Tetanuskeime in einen empfänglichen Körper ein, so vermehren sie sich an der Infectionsstelle; hier, an der Vermehrungsstelle der Bakterien, wird das furchtbare Tetanusgift gebildet, welches in den Körper aufgesogen wird und dann seine deletären Allgemeinwirkungen entfaltet. Das Tetanusgift wird aber, ebenso wie hier im

---

[1]) Bouchard (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. p. 433) fand, dass das Serum des gegen die Infection mit Bac. pyocyaneus immunisirten Kaninchens schädigend wirkt auf den Bac. pyocyaneus, während das Serum des normalen Kaninchens einen guten Nährboden für den genannten Mikroorganismus darstellt. — Behring und Nissen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890) constatirten, dass das Serum des gegen die Infection mit Vibrio Metschnikoff immunisirten Meerschweinchens den Vibrio Metschnikoff kräftig abtödtet, während das Serum normaler Meerschweinchen keine Spur von schädigender Einwirkung gegenüber dem Vibrio Metschnikoff besitzt.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 49.

Körper, auch ausserhalb desselben, in der künstlichen Cultur des Tetanusbacillus gebildet. Befreit man eine künstliche Cultur von den lebenden Bacillenkeimen (durch Filtration), so hat das bakterienfreie, giftige Filtrat, in der passenden Dosis dem Thierkörper einverleibt, die Erkrankung des Thieres an Tetanus ebenso zur Folge wie vorher das Eindringen der Tetanuskeime. In dem ersten Falle haben wir zunächst eine Tetanusinfection: die Keime dringen in den Körper ein und vermehren sich; im Anschlusse daran entsteht eine Intoxication: die von den sich vermehrenden Keimen gebildeten Gifte werden resorbirt und wirken. In dem zweiten Falle hingegen haben wir sofort, primär, eine Intoxication: das fertige Tetanusgift als solches, als gelöster chemischer Körper, dringt in den Organismus ein und wirkt. Behring und Kitasato stellten nun in der citirten Arbeit die wichtige Thatsache fest, dass die Einverleibung des Serums künstlich gegen Tetanus immunisirter Thiere tetanusempfängliche Thiere nicht allein gegen die Tetanusinfection, sondern auch gegen die primäre Intoxication schützt. Ja, die Autoren konnten den hochwichtigen, ganz neue Ausblicke in das Gebiet der Immunitätslehre eröffnenden, Schluss aus ihren Untersuchungen ziehen, dass die Immunität ihrer künstlich gegen Tetanus immunisirten Versuchsthiere beruhe auf der Fähigkeit des zellenfreien Blutserums, die toxischen Substanzen, welche die Tetanusbacillen produciren, unschädlich zu machen. Der Schluss gründete sich (abgesehen von den bereits citirten Beobachtungen) auf die festgestellte Thatsache, dass das Blutserum künstlich immunisirter Thiere auch im Reagenzglase das Tetanusgift zerstört, ferner darauf, dass es gelang, tetanuserkrankte Thiere, d. h. Thiere, in deren Körpersäften das Tetanusgift bereits wirksam kreiste, durch Einverleibung des Blutserums immunisirter Thiere zu heilen. Die künstliche (erworbene) Tetanusimmunität beruht also auf giftzerstörender („antitoxischer“) Eigenschaft des Blutserums. Diese antitoxische Eigenschaft documentirt sich überall, wo derartiges Serum mit Tetanusgift zusammentrifft; sei es, dass Tetanusgift von aussen in den Körper des immunisirten Individuums eindringt; sei es ferner, dass das aus dem immunisirten Körper entnommene Serum in vitro mit Tetanusgift zusammentrifft; sei es endlich, dass dieses Zusammentreffen mit dem Tetanusgift in dem Körper eines tetanuskranken Individuums geschieht. In dem letzteren Falle kann, wenn die quantitativen Beziehungen zwischen Gift und antitoxischem Serum zweckmässige sind, und es der Zustand des Individuums sonst erlaubt, Heilung von sonst sicher tödtlicher Tetanuserkrankung erfolgen; und derartige Heilungen wurden

von Behring und Kitasato in der citirten Mittheilung bereits berichtet.

Diese epochemachenden Entdeckungen bei Tetanus sind der Ausgangspunkt einer grossen Reihe von Untersuchungen geworden, welche sich darauf bezogen, in wie weit das Blutserum künstlich immunisirter Individuen bei Infectionskrankheiten für Heilzwecke verwendbar sei. Specielle Rücksichtnahme erheischte natürlich die Frage, ob in Erkrankungsfällen des Menschen diese „Blutserumtherapie"[1]) anwendbar und aussichtsvoll sei. Bei diesen Untersuchungen hat sich nun zunächst ergeben, dass das Behring'sche Gesetz überall zutreffend ist. In jedem Einzelfalle von künstlicher Immunität, der bisher daraufhin untersucht wurde, hat sich das Blutserum fähig erwiesen, die Immunität auf empfängliche Individuen zu übertragen. Diese Fähigkeit ist selbstverständlich stets eine specifische; d. h. die Immunität wird nur für diejenige Krankheit durch die Uebertragung geschaffen, gegen welche das Ausgangsindividuum immunisirt war. Ferner hat sich durchgängig die Thatsache als zutreffend erwiesen, dass Individuen, welche von Natur immun sind gegen eine bestimmte Infectionskrankheit, in ihrem Blutserum keine immunisirenden Substanzen haben. Diese Substanzen sind also niemals von Natur aus in einem Individuum vorhanden, sondern sie müssen immer erst gebildet werden; und zwar geschieht dies bei der künstlichen Immunisirung. Für das Verständniss des Zustandes der natürlichen Immunität fehlt uns vorläufig noch jeder Anhalt.

Unter den bisher untersuchten Krankheiten hat sich in den genannten Beziehungen dem Tetanus am nächsten gestellt die Diphtherie.[2]) Auch hier haben wir eine Krankheit, die durch toxische Bakterien (cf. oben p. 175) veranlasst wird; auch hier sind die Allgemeinsymptome der Krankheit auf Intoxication zu beziehen; auch hier hat sich das Blutserum künstlich immunisirter Individuen durch seine antitoxischen Eigenschaften wirksam erwiesen. Man kann den Vorgang der Immunisirung gegen Tetanus und gegen Diphtherie, dem Wesen dieser Krankheiten entsprechend, auch als Giftfestigung bezeichnen. Ehrlich[3]) hat nun den wichtigen Nachweis geführt, dass das Behring'sche Gesetz auch für Giftfestigungen gegen andere als durch Bakterien gebildete Gifte gilt. Ehrlich gelang es, Mäuse gegen Ricin (einen ausserordentlich giftigen, in den Ricinussamen enthaltenen Eiweisskörper) sowie gegen Abrin (das Toxalbumin der

[1]) cf. Behring, Die Blutserumtherapie. I. Leipzig, G. Thieme 1892. p. 6.
[2]) Untersuchungen von Behring und Wernicke (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892).
[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 32 und 44.

Jequiritybohne) dadurch zu immunisiren, dass er langsam steigende Dosen der resp. Gifte an die Thiere verfütterte. Das Blut der „ricinfesten“ Thiere zeigte dann die Fähigkeit, die Ricinfestigkeit auf normale Thiere zu übertragen; ausserdem erwies sich dies Blut in vitro dem Ricin gegenüber als giftzerstörend. Die Versuche mit den „abrinfesten“ Thieren hatten entsprechende Resultate.

Unter den Infectionskrankheiten hat sich auch überall da das Behring'sche Gesetz als zutreffend erwiesen, wo man bei der Immunisirung nicht von Giftfestigung sprechen kann; es gilt z. B. für alle Fälle von Septicaemien (cf. p. 175), die bisher in dieser Beziehung untersucht wurden. Ja, selbst bei Infectionskrankheiten, deren Erreger uns noch völlig unbekannt sind, und bei denen wir auch über eventuelle Gifte noch gar nichts Genaueres wissen, wie z. B. bei der Hundswuth[1]), gilt das Behring'sche Gesetz: Das Blutserum künstlich immunisirter Individuen vermag die Immunität auf normale Individuen zu übertragen.

Die in Rede stehenden Untersuchungen haben auch auf die Vorgänge bei der spontanen Heilung von Infectionskrankheiten ein Licht geworfen. Dieselbe scheint ganz im Allgemeinen so zu erfolgen, dass sich in dem erkrankten Organismus, und zwar im Blute, Körper bilden, welche die die Infectionskrankheit veranlassenden Schädlichkeiten paralysiren. Ist die Krankheit dann überstanden, so finden sich diese „Antikörper“ im Blute weiterhin vor; ihnen verdankt der Organismus in denjenigen Fällen, in welchen das einmalige Ueberstehen der Krankheit Immunität erzeugt, diese Eigenschaft der Immunität. Bei Menschen, welche Pneumonie[2]), Typhus[3]), Cholera[4]), Diphtherie[5]) überstanden haben, hat sich das Blutserum von immunisirender Einwirkung gegenüber Versuchsthieren erwiesen.

Das Blutserum immunisirter Individuen steht in seiner immunisirenden Fähigkeit, in seinem „Immunisirungswerth“, um so höher, je höher der Immunitätsgrad des blutliefernden Individuums ist. Jedoch kommt es hierbei nicht auf den absoluten Grad der Immunität an,

---

[1]) Babes und Lepp (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1889. No. 7) stellten bereits 1889 fest, dass mit den Säften gegen Wuth refractär gemachter Thiere andere Thiere immunisirt werden können.

[2]) G. und F. Klemperer, Berliner klin. Wochenschr. 1891. No. 34, 35.

[3]) Stern, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 37.

[4]) Lazarus, Berliner klin. Wochenschr. 1892. No. 43, 44.

[5]) Klemensiewicz und Escherich, Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 5/6.

sondern auf die Differenz zwischen dem durch die künstliche Immunisirung erreichten und dem ursprünglich vorhanden gewesenen.[1]) Der Immunisirungswerth des Blutserums wird also ceteris paribus bei ursprünglich sehr empfänglichen Thieren, die dann möglichst hoch immunisirt wurden, am grössten sein. Der Immunitätsgrad resp. der Grad der Giftfestigung wird nach dem Vorgange von Ehrlich[2]) durch eine Zahl ausgedrückt, welche angiebt, das Wievielfache der für normale Individuen (gleichen Körpergewichts) sicher tödtlichen Minimaldosis des Giftes das immunisirte Individuum noch verträgt, ohne daran zu Grunde zu gehen. Der Immunisirungswerth des Blutserums wird nach Behring und Wernicke[3]) durch diejenige Zahl bestimmt, welche angiebt, wieviel Gramm Versuchsthier ein Gramm Serum gegen die sicher tödtliche Minimaldosis des Giftes zu schützen vermag, wenn[4]) das Gift 24 Stunden nach der Serumapplication einverleibt wird.

Oben (p. 187, 188) haben wir bereits erwähnt, dass das schützende Serum unter Umständen auch Heilung bereits ausgebrochener Krankheit zu bewirken vermag (Blutserumtherapie). Es hat sich nun ganz allgemein gezeigt, dass stets sehr erheblich viel mehr Serum zur Erzielung von Heilerfolgen nothwendig ist, als (unter sonst gleichen Bedingungen) zur Immunisirung ausreicht. Ferner ist ceteris paribus desto mehr „Heilserum" nothwendig, je weiter vorgeschritten der zu bekämpfende Krankheitsprocess bei Beginn der Behandlung bereits ist.[5]) Selbstverständlich braucht man sowohl für Immunisirungs- wie für Heilzwecke unter sonst gleichen Verhältnissen um so mehr Serum, je höher das Körpergewicht des zu behandelnden Individuums ist.

Was nun die Anwendung der Blutserumtherapie zur Heilung des erkrankten Menschen angeht — es kommen hier zunächst hauptsächlich Diphtherie und Tetanus in Betracht, und es liegen auch schon eine Anzahl von Heilversuchen, die mit Heilserum angestellt

---

[1]) Vergl. hierüber sowie über das Folgende die Arbeit von Behring, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 1 ff.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. p. 977.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 16, 17.

[4]) Diese Klausel hat sich deshalb als nothwendig erwiesen, weil das schützende Serum gewöhnlich erst eine Reihe von Stunden nach seiner Einverleibung in den Organismus seine volle Wirksamkeit entfaltet. (Behring und Knorr, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. p. 417.)

[5]) Cf. Behring und Wernicke (Diphtherie-Untersuchungen). Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 19; ferner Kitasato (Heilversuche an tetanuskranken Thieren). Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892.

wurden, bei diesen Krankheiten vor[1]) —, so geht aus dem Dargelegten hervor, dass zur Erreichung des angestrebten Zieles und zur Ermöglichung allgemeinerer Anwendung der Serumtherapie es nothwendig ist, grosse Mengen äusserst wirksamen Serums darzustellen. Zu dem Zwecke ist es erforderlich, grosse Thierindividuen (die leicht die Entziehung einer grösseren Quantität Blutes vertragen) zu immunisiren. Man hat ferner hierfür solche Species auszusuchen, die zunächst eine sehr erhebliche natürliche Empfänglichkeit für die entsprechende Infectionskrankheit besitzen; und man muss danach streben, diese Thiere so hochgradig wie nur irgend möglich zu immunisiren. Denn es kommt ja, wie wir bereits oben (p. 190) sahen, bezüglich der Wirksamkeit des Heilserums auf die Differenz zwischen dem ursprünglichen Immunitätsgrade und dem durch die Immunisirung erlangten an. Als passendste Thierspecies haben sich nach alledem für die Diphtherie der Hammel, für den Tetanus das Pferd erwiesen. Selbstverständlich müssen die behufs der Verwendung zu Heilzwecken beim Menschen zu immunisirenden Thierindividuen völlig gesund sein.

Die grössten Schwierigkeiten bei der Bereitung des Heilserums macht die primäre Immunisirung der Thiere, aus deren Blut das Serum hergestellt werden soll. Speciell für Tetanus und Diphtherie sind eine ganze Reihe von Immunisirungsmethoden angegeben worden.[2]) Am zweckmässigsten hat sich bei den Behring'schen Untersuchungen, und zwar zunächst für Tetanus und Diphtherie, die „combinirte Immunisirungsmethode“[3]) des Autors erwiesen. Dieselbe besteht darin, dass die giftigen Bakterienculturen zunächst durch chemische Beeinflussung, und zwar am besten durch einen (procentisch genau bestimmten) Zusatz von Jodtrichlorid, in ihrer Giftigkeit geschädigt werden. Mit so geschädigten Culturen werden die Thiere zunächst behandelt. Allmählich geht man dann zu weniger geschädigten Culturen über, bis man schliesslich zu gar nicht beeinflussten, vollvirulenten Culturen gelangt, die zunächst in kleinster, dann in mehr und mehr steigender Dosis angewandt werden. Der Immunitätsgrad erfährt dabei von Impfung zu Impfung eine Steigerung. Ohne die

[1]) Diese Heilversuche haben zunächst mit Sicherheit die völlige Unschädlichkeit des Diphtherie- und Tetanusheilserums für den erkrankten Menschen erwiesen.

[2]) Eine Aufzählung der Methoden zur Immunisirung gegen Diphtherie findet man bei Behring, Die Geschichte der Diphtherie. Leipzig, G. Thieme, 1893. p. 152.

[3]) Behring, Die Blutserumtherapie I. Leipzig, G. Thieme. 1892. p. 45.

Anwendung vollvirulenter Culturen bei der Immunisirung sind hohe Immunitätsgrade überhaupt gar nicht zu erreichen. Das Princip der Immunitätssteigerung durch Einverleibung immer grösser werdender Mengen vollgiftigen Materials stammt von Ehrlich.[1])

Bei der künstlichen Immunisirung der Thiere beobachtet man jedesmal nach der Application des Impfstoffes eine Reaction des Organismus, welche sich z. B. bei Pferden, die gegen Tetanus immunisirt werden[2]), in Temperatursteigerung, Abnahme des Körpergewichts und in einer bestimmten Veränderung der Blutbeschaffenheit äussert. Die letztere besteht in einer veränderten Art der Serumausscheidung des Aderlassblutes: das Serum wird viel langsamer als bei dem Impfthiere ausserhalb der Reactionsperioden und als bei normalen Pferden ausgeschieden; das ausgeschiedene Serum umspült den Blutkuchen nicht frei beweglich, sondern hängt in einem Netz von Fibrinfäden. Während einer jeden Reactionsperiode ist der Zustand der Immunität des Impfthieres und demgemäss auch der Immunisirungswerth seines Blutserums ein niedrigerer als vor der Einverleibung des Impfstoffes. Nach der Reactionsperiode jedoch, d. h. nach dem Ablauf der Impfkrankheit, zeigt sich der Immunisirungswerth des Blutserums gegenüber dem Zustande vor der Impfung jedesmal gesteigert.[3]) Wie Brieger und Ehrlich[4]) (an Ziegen, die gegen Tetanus immunisirt wurden) gefunden haben, folgt auf diesen Anstieg des Immunisirungswerthes secundär wieder ein mässiger Abfall, worauf dann der Immunisirungswerth eine constant bleibende (den Zustand vor der Impfung überragende) Höhe behält. Zum Behufe möglichst schneller und ausgiebiger Steigerung der Immunität soll jede neue Impfung zu derjenigen Zeit vorgenommen werden, wo der Immunitätsgrad nach der vorhergehenden Reactionsperiode seine höchste Höhe erreicht hat (Brieger und Ehrlich). Jedenfalls muss die Reactionsperiode jedesmal völlig überwunden sein: das Thier muss wieder ganz gesund sein. Das letztere gilt natürlich auch für die Wahl des Zeitpunktes, an welchem dem immunisirten Thiere Blut zum Zwecke der Gewinnung von Heilserum entzogen werden soll; denn, so lange die Reactionsperiode

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. p. 978.

[2]) Cf. Behring und Casper (Behring, Die Blutserumtherapie. II. Leipzig, G. Thieme, 1892. p. 105).

[3]) Eine Steigerung der Immunität bei einem bestimmten Thier ist so lange möglich, so lange es noch gelingt, durch die Impfungen Reactionen hervorzurufen (Behring und Knorr, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. p. 414).

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. p. 336 ff.

andauert, sind die giftigen Impfstoffe noch nicht völlig aus dem Blute verschwunden.[1])

Das zu Heilzwecken zu verwendende Serum lässt sich durch einen Zusatz von $^1/_2$ % Carbolsäure conserviren.[2]) („Carbolheilserum".)

Ueber die chemische Natur der im Heilserum vorhandenen wirksamen Substanzen ist bis jetzt wenig Sicheres bekannt. Behring und Knorr[3]) haben gefunden, dass die „Tetanusheilkörper" sehr widerstandsfähig gegen physikalische, chemische und atmosphärische Einflüsse sind, dass sie bei der Dialyse des Serums in das Dialysat übergehen, und dass sie in dem letzteren die characteristischen Eiweissreactionen durchaus vermissen lassen.

Durch Ehrlich[4]) ist der Nachweis geführt worden, dass die immunisirenden Substanzen des Blutes in die Milch überzugehen vermögen, und dass durch Säugung Immunität hervorgerufen werden kann. Gleichzeitig hat Ehrlich festgestellt, dass Immunität resp. Giftfestigung durch die Mutter, aber nicht durch den Vater, auf die Nachkommenschaft übertragen wird. Bei der Vererbung der künstlichen Immunität kommen nach den Ermittelungen Ehrlich's zwei differente Factoren in Betracht: erstens die Versorgung des fötalen Blutes mit immunisirenden Substanzen aus dem mütterlichen Blute, und zweitens die durch die Säugung bedingte Vermehrung dieser Substanzen im Organismus des Kindes.

Bezüglich der Dauer, der Haltbarkeit der künstlichen Immunität hat man die beiden verschiedenen Arten, nach denen Immunität erworben werden kann, scharf auseinander zu halten. Ist die Immunisirung eine „active"[5]), d. h. vollzieht sie sich durch Ueberstehen einer Impfkrankheit, muss der Organismus die bei der Impfung eingedrungenen giftigen Substanzen selbst überwinden, und schafft er sich so selbst eine Resistenz gegen ähnliche Invasionen giftiger Substanzen, so ist die aus diesem Kampf des Körpers mit den

[1]) Behring und Knorr (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893. p. 414) entnehmen Blut von tetanusimmunisirten Pferden zur Heilserumgewinnung erst dann, wenn die Thiere normales allgemeines Aussehen darbieten, wenn Temperatur und Puls normal sind, wenn das normale (vor der Impfung vorhandene) Körpergewicht wiedergekehrt ist und die Gerinnung des Aderlassblutes (cf. oben p. 192) wieder normalen Ablauf zeigt.

[2]) Behring und Wernicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 18.

[3]) Behring, Die Blutserumtherapie I. Leipzig, G. Thieme, 1892. p. 52.

[4]) Versuche an ricinfesten (siehe oben p. 189) Mäusen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 183 ff.). Vergl. auch Brieger u. Ehrlich, ebenda Bd. 13. 1893.

[5]) Ehrlich, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 189.

Schädlichkeiten resultirende Immunität eine relativ feste, relativ lange Zeit andauernde. War die Immunisirung hingegen eine „passive“, d. h. wurde dem Organismus die Immunität verliehen durch Einführung von Blut, Blutserum, Milch eines immunisirten Individuums, wurden also die immunisirenden Substanzen dem Organismus fertig gebildet überliefert, so ist die Dauer der auf diese Weise mühelos erlangten Immunität eine relativ kurze, über eine Reihe von Wochen wahrscheinlich nicht hinausgehende.[1])

---

[1]) Ehrlich. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 189.

II.

Die wichtigsten pathogenen Bakterienarten im Speciellen.



1. Der Milzbrandbacillus.

Der Milzbrandbacillus (Bacillus anthracis, bactéridie du charbon) wurde im Blute milzbrandkranker Thiere zuerst 1849 von Pollender[1]) gesehen. Der Befund wurde dann von verschiedenen Seiten bestätigt, und namentlich war es Davaine[2]), welcher (1863) auf Grund experimenteller Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangte, dass durch die in dem Blute milzbrandkranker Thiere vorhandenen Stäbchen die Milzbrandkrankheit erzeugt werde. Aber Robert Koch war es vorbehalten, das letztere schlagend zu beweisen. Koch[3]) gelang es, die Stäbchen künstlich zu züchten, ihren Entwickelungsgang in allen Einzelheiten darzulegen, nachzuweisen, dass die Stäbchen unter Umständen Dauerformen (Sporen) produciren, dass die letzteren viel resistenter sind als die Stäbchen selbst, und dass die Infectiosität milzbrandigen Materiales eine ganz verschiedene Haltbarkeit besitzt, je nachdem das Material Sporen enthält oder nur Stäbchen. So erklärte Koch die Differenzen in den Erfolgen der früheren Impfversuche, welche ein abschliessendes Urtheil über die Bedeutung der im Blute gefundenen Stäbchen bis dahin nicht ermöglicht hatten. Als eins der Hauptergebnisse seiner Untersuchungen bezeichnete Koch[4]) den Nach-

---

[1]) (Casper's) Vierteljahrsschrift für gerichtliche und öffentliche Medicin. Bd. 8. 1855. p. 112. (Mikroskopische Untersuchung des Blutes von an Milzbrand gestorbenen Kühen im Herbst 1849.)

[2]) Davaine, Recherches sur les infusoires du sang dans la maladie connue sous le nom de sang de rate (Comptes rendus de l'acad. des sciences. Paris. t. 57. 1863).

[3]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876.

[4]) Ebenda. p. 292.

weis, „dass nur solche Substanzen Milzbrand hervorriefen, aus welchen bei den gleichzeitig angestellten Culturversuchen sich sporenhaltige Fäden entwickelten und umgekehrt.“ Hiermit war bewiesen, dass die Uebertragbarkeit des Milzbrandes an das Vorhandensein lebensfähiger Bacillenkeime geknüpft ist.

Der Milzbrandbacillus ist 1—1,5 μ breit und 3—6—10 μ lang. Er findet sich im Blute milzbrandiger Thiere, und zwar entweder in einzelnen Exemplaren oder in kleinen Verbänden, 2, 3, 6 bis 10 Stäbchen zu einem Faden vereinigt. Die einzelnen Stäbchen haben scharf abgeschnittene Enden, die Endflächen sind ganz wenig concav eingezogen, so dass in den Fäden zwischen den zusammenstossenden Enden je zweier Stäbchen eine Trennungsstelle entsteht, die eine kleine Anschwellung in der Mitte besitzt. Dies Verhalten ist dem Milzbrandbacillus durchaus eigenthümlich. Es unterscheidet ihn schon morphologisch von anderen, im Uebrigen ähnlich gestalteten Bacillenarten. Diese eigenthümliche Gliederung der Milzbrandbacillenfäden kommt aber nur bei einer gewissen Färbungsbehandlung zum Ausdruck. Am Vollendetsten zeigt sie das von Rob. Koch 1877 veröffentlichte Photogramm[1]), welches nach einem mit Anilinbraun gefärbten, in Glycerin eingelegten Trockenpräparate von Milzsubstanz der Milzbrandmaus aufgenommen war. Ich habe mich vergeblich bemüht, ein ähnlich typisches Präparat für meine Tafeln zu gewinnen. Am besten zeigte sich mir in dieser Beziehung ein mit Methylenblau gefärbtes Trockenpräparat, welches auf Taf. V, Fig. 25, dargestellt ist. Einzelne Bacillenfäden zeigen hier die typische Gliederung recht gut. Auf diesem Bilde sieht man an einzelnen Bacillenfäden den Kern und die Hülle der Bacillen deutlich differenzirt.[2]) Diese Differenzirung kommt durchaus nicht an allen Trockenpräparaten des Milzbrandbacillus zum Ausdruck; sie wird aber auch nicht allzu selten, am häufigsten bei Methylenblaufärbung, beobachtet. Oben (p. 63, Anm. 1) haben wir bereits angegeben, dass in solchen Präparaten die Hüllen oder „Kapseln“ der Milzbrandbacillen gewöhnlich hellröthlich erscheinen im Gegensatz zu dem blau gefärbten Kern. Auch an Schnittpräparaten, die mit Methylenblau gefärbt wurden, habe ich gelegentlich die Kapseln der Milzbrandbacillen constatiren können.

Der Milzbrandbacillus ist stets unbeweglich. Er wächst bei Sauerstoffanwesenheit auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur. Unter

---

[1]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. Taf. XVI, Fig. 5.

[2]) Die Hüllen oder Kapseln der Milzbrandbacillen wurden zuerst von Serafini (cf. Baumgarten's Bakteriol. Jahresber. 1888. p. 102) beobachtet.

15° C. findet kein Wachsthum statt. Zwischen 15 und 18° C. ist dasselbe sehr kümmerlich. Die obere Grenze ist etwa 45° C. Die Gelatine wird mässig schnell verflüssigt. Der Impfstich der Gelatinestichcultur zeigt häufig, aber nicht stets, feine fadenförmige Ausläufer (Taf. VI, Fig. 33); auf der Gelatineplatte zeigt die Colonie häufig einen zierlich gelockten Rand. Taf. V, Fig. 29, zeigt eine solche Colonie bei schwacher (43 facher) Vergrösserung. Die Lockenbildung ist, wenn man sie beobachtet, für Milzbrand characteristisch. Häufig aber erscheinen die Colonien auf der Gelatineplatte ohne diesen gelockten Rand; sie bilden dann mehr oder weniger kugelförmige Knäuel, an deren Rändern man bei schwacher Vergrösserung aber stets ein fädiges Gefüge constatiren kann. Die Colonie auf der Platte zeigt auch nicht selten fädige Ausläufer, welche in die Umgebung hineinwachsen, also ähnliche Bildungen, wie wir sie bei der Stichcultur sahen. Solche Colonien mit Ausläufern zeigt die auf Taf. V, Fig. 30, bei 40 facher Vergrösserung dargestellte Platte, welche übrigens nicht durch Vertheilung von Milzbrandmaterial in der flüssig gemachten Gelatine, sondern durch oberflächliches Aufstreichen des Materials mit der Spitze des Platindrahtes auf die erstarrte sterile Gelatine (cf. p. 142) erhalten wurde. Fig. 31 auf Taf. VI zeigt ein Klatschpräparat von dieser Platte bei 1000facher Vergrösserung. Die zierlichen fädigen Windungen der Figur 30 lösen sich hier in die deutlich gegliederten Bacillenfäden auf.

Auf Kartoffeln bildet der Bacillus einen weissen, trockenen Belag. Auf der Agaroberfläche wächst derselbe in Gestalt eines grauen, mattglänzenden Ueberzuges.

Ueberall auf den künstlichen Nährböden wächst der Milzbrandbacillus zu langen Fäden aus, die viele Hunderte und vielleicht Tausende von Gliedern enthalten können.

Ist der Nährboden in gewisser Beziehung erschöpft, so tritt in den Fäden Sporenbildung (cf. oben p. 16) ein; und zwar bildet sich in der Mitte jedes einzelnen Bacillus eine Spore. Die Sporenbildung ist aber noch an zwei weitere Bedingungen geknüpft: Erstens muss Sauerstoff vorhanden sein, und zweitens muss eine bestimmte Temperatur (zwischen 18 und etwa 40° C.) herrschen. Bei Brüttemperatur sind die Sporen etwa 24 Stunden nach der Einsaat des Materiales in den Nährboden fertig, bei 21° C. etwa nach 72 Stunden. Die kräftigsten und schönsten Sporen werden zwischen 20 und 25° C. gebildet. Die Milzbrandspore besteht nach Koch [1]) „aus einem stark

[1]) F. Cohn's Beitr. z. Biol. d. Pfl. Bd. 2. 1876. p. 289.

lichtbrechenden Tröpfchen, vielleicht einem Oel, welches von einer dünnen Protoplasmaschicht eingehüllt ist. Letztere ist die eigentliche entwickelungsfähige Zellsubstanz, während ersteres vielleicht einen bei der Keimung zu verbrauchenden Reservestoff bildet." Fig. 34 auf Taf. VI zeigt Milzbrandfäden mit den stark lichtbrechenden (glänzenden) Sporen. — Sind übrigens bei der Erschöpfung des Nährbodens die übrigen Bedingungen für die Sporenbildung nicht vorhanden, so kommt es zum Absterben der Bacillen; es bilden sich dann, wie früher (p. 15) dargelegt, Involutionsformen (siehe Fig. 32 auf Taf. VI).

Sind die Sporen fertig gebildet, so zerfällt, wie wir oben (p. 16) dargelegt haben, der Bacillenfaden; die Sporen werden aus dem Verbande ausgelöst, liegen frei da und verändern sich nun nicht mehr, bis sie wieder auf einen passenden Nährboden gelangen. Hier keimen sie, bei Brüttemperatur schon innerhalb weniger Stunden, wieder zu Bacillen in der Weise aus, dass die länglich rund gestaltete Spore sich in der Richtung ihres grössten Durchmessers verlängert, dabei an Glanz abnimmt und schliesslich den sich durch Zweitheilung weiter vermehrenden Bacillus repräsentirt.

Die Resistenz der Milzbrandsporen gegen äussere Einwirkungen ist, wie wir bereits oben (p. 26, 30) erwähnten, nach den Ermittelungen von E. v. Esmarch nicht immer die gleiche. Es giebt Milzbrandsporen, die durch 5 proc. Carbolsäurelösung bereits in 2 Tagen, durch strömenden Dampf von 100° C. in 3 Minuten abgetödtet werden, während es andere giebt, die die Einwirkung derselben Flüssigkeit länger als 40 Tage, des strömenden Dampfes länger als 12 Minuten ertragen. Das Material hat je nach seiner Provenienz eine verschiedene Resistenz. Die Gründe dafür sind noch unbekannt.

Chamberland und Roux[1]) fanden 1883, dass Milzbrandbacillen die Fähigkeit verlieren können, Sporen zu bilden („asporogener Milzbrand"), ohne dass dabei die Virulenz geschädigt zu werden braucht. Solcher asporogener Milzbrand wurde erhalten durch Cultivirung von Milzbrandbacillen in Nährbouillon mit einem Zusatz von $^1/_{2000}$ bis $^1/_{5000}$ Kaliumbichromat. K. B. Lehmann[2]) fand später, dass Milzbrandculturen, die in langer Reihe von Gelatine zu Gelatine weiter gezüchtet waren, asporogen geworden waren. Behring[3]) hat

[1]) Compt. rend. de l'acad. des sc. t. 96. — Roux, Annal. de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 1.

[2]) Münch. med. Woch. 1887. No. 26.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 172.

dann nachgewiesen, dass die genannte Erscheinung als Ausdruck einer gewissen Degeneration anzusehen ist, die (wie bereits Chamberland und Roux fanden) durch gewisse für die Bacillen nicht zweckmässige Zusätze zu den Nährböden künstlich veranlasst werden kann.

Die Virulenz der Milzbrandculturen lässt sich auf verschiedene Art und Weise abschwächen, wie wir oben (p. 179 ff.) bereits erörtert haben. Der in seiner Virulenz abgeschwächte Milzbrand wächst, wenn er das Versuchsthier noch zu tödten vermag, in den Organen häufig zu langen, schleifenartig verschlungenen Fäden aus. Eine Illustration hierzu giebt Fig. 28 auf Taf. V; das Präparat ist aus der Milz einer Maus hergestellt, welche mit Milzbrandbacillen inficirt worden war, die längere Zeit im Laboratorium auf künstlichem Nährboden weiter gezüchtet worden waren.

Der virulente Milzbrand producirt auf künstlichen Nährböden Säure, der abgeschwächte Milzbrand bewirkt Reduction des Nährbodens (Behring[1]).

Der Milzbrandbacillus ist ein facultativer Parasit. Ohne Zweifel findet er draussen in der Natur an geeigneten feuchten Stellen sein Fortkommen und kommt dort auch zur Sporenbildung, um dann gelegentlich mit dem Futter in den Organismus der Weidethiere, speciell den Darm derselben, eingeführt zu werden und dann die Erkrankung an Milzbrand zu veranlassen.

In der Natur ausserhalb des Thierkörpers nachgewiesen ist der Milzbrandbacillus noch nicht.

Die Weidethiere (Schafe, Rinder, Pferde) werden fast stets vom Darme aus inficirt. Der Milzbrand tritt hier zunächst als Darmmilzbrand auf. Die Infection kann ausserdem auf vielen anderen Wegen erfolgen; besonders durch cutane Impfung kann der Infectionsstoff auf empfängliche Thiere leicht übertragen werden. Ausserordentlich empfänglich für cutane Infection sind Mäuse, ferner Meerschweinchen und Kaninchen. Diese Thiere können auch durch Inhalation von Sporen sehr leicht inficirt werden (Buchner)[2], während sie vom Darme aus sehr schwer zu inficiren sind. Bei der Infection durch Inhalation kommt zunächst Lungenmilzbrand zu Stande. Als primärer Lungenmilzbrand ist auch die sogenannte „Hadernkrankheit“ (Krankheit der Wollsortirer, maladie des trieurs de laine, woolsorters disease) des Menschen aufzufassen, welche bei Lumpensortirern auftritt und der Einathmung von Milzbrandsporen,

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 142.
[2]) Arch. f. Hyg. Bd. 8. 1888.

die den Lumpen anhafteten, ihre Entstehung verdankt. Uebrigens kommen die meisten Milzbrandfälle beim Menschen durch Infection von kleinen Hautwunden zu Stande (Pustula maligna.[1]) Bei zweckmässiger Behandlung, und öfters auch ohne diese, bleibt der Milzbrand beim Menschen local resp. geht nicht über die Lymphdrüsen hinaus. Auch Fälle von Darmmilzbrand sind beim Menschen bekannt geworden.

Wo die Infectionspforte aber auch liegen mag, der Milzbrand bietet, wenn er sich verallgemeinert und zum Tode führt, stets das Bild einer typischen Septicaemie (cf. p. 175) dar; d. h. die Bacillen finden sich nach dem Tode nur in den Blutgefässen. Das Photogramm Fig. 27 auf Taf. V zeigt einen Schnitt durch die Lunge der an Milzbrand gestorbenen Maus bei mittlerer (150facher) Vergrösserung. Man sieht hier deutlich die Lagerung der Bacillen in den Blutgefässen; der auf der linken Seite des Bildes liegende durchschnittene Bronchialast enthält keine Bacillen. Die grossen Gefässe enthalten nach Koch beim Meerschweinchen viel, beim Kaninchen weniger, bei der Maus sehr wenig Bacillen. Bei der Maus ist die Milz ausserordentlich bacillenreich (siehe Fig. 25 u. 26, Taf. V).

Die Milzbrandbacillen finden sich bei den Versuchsthieren nicht sofort nach der Infection innerhalb des Blutkreislaufs, sondern sie sind hier immer erst in einem späteren Stadium des Krankheitsverlaufes anzutreffen.[2])

Niemals werden in der unverletzten Milzbrandleiche sporenhaltige Milzbrandbacillen gefunden. So lange nämlich das Thier lebt, ist die zur Einleitung der Sporenbildung nothwendige Erschöpfung des Nährbodens nicht eingetreten; ist das Thier gestorben, so fehlt der zur Sporenbildung nothwendige Sauerstoff.

Das Schwein[3]), der Hund, die meisten Vögel[4]) verhalten sich

---

[1]) Die Milzbrandnatur der Pustula maligna des Menschen erkannten (auf Grund des mikroskopischen Nachweises der „bactéridies" und auf Grund gelungener Uebertragungen auf Meerschweinchen) zuerst Davaine und Raimbert (Comptes rendus de l'acad. des sciences. Paris, t. 59. 1864. p. 429).

[2]) G. Frank und Lubarsch (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1891. p. 270) fanden z. B. bei Meerschweinchen, die mit einer Milzbrandsorte geimpft wurden, welche die Thiere spätestens nach 34 Stunden tödtet, nie vor der 17. Stunde Bacillen im Blute; nach der 22. Stunde wurden die Bacillen nie im Blute vermisst.

[3]) Nach Crookshank (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. p. 407) können Schweine an Milzbrand erkranken.

[4]) Canalis und Morpurgo (Fortschr. d. Med. 1890. No. 18) machten Tauben durch Hungern milzbrandempfänglich.

immun gegen Milzbrand. Die Ratte[1]) zeigt sich meist immun. Der Frosch ist unter gewöhnlichen Umständen immun gegen den Milzbrand; bringt man den Frosch aber, nachdem man Milzbrandsporen in seinen Lymphsack eingebracht hat, in den Brütschrank, so geht er an Milzbrand zu Grunde.[2])

Mit den Pasteur'schen, durch Cultivirung von virulenten Milzbrandbacillen bei Temperaturen zwischen 42 und 43° C. hergestellten Vaccins (cf. p. 181) lassen sich Thiere, speciell Schafe und Rinder, gegen Impfmilzbrand immunisiren; gegen den natürlichen Infectionsmodus (primärer Darmmilzbrand) ist die Pasteur'sche Schutzimpfung nicht mit Sicherheit zu verwenden, wie durch Koch nachgewiesen worden ist. Hankin[3]) stellte im Koch'schen Institute aus Milzbrandculturen eine giftige Albumose dar, die, in sehr kleiner Dosis Mäusen und Kaninchen einverleibt, Immunität gegen Milzbrand hervorruft. Wooldridge vermochte durch Einverleibung einer aus dem normalen Thierkörper ohne Mitwirkung von Bakterien hergestellten bestimmten Eiweisslösung Immunität gegen Milzbrandinfection hervorzurufen (cf. oben p. 184, Anm. 2).

Der Milzbrandbacillus nimmt aus wässerigen Anilinfarbstofflösungen die Farbe schnell auf; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Wir hatten uns oben (p. 100) vorgenommen, bei Gelegenheit des Milzbrandbacillus auf die Sporenfärbung einzugehen. Wie wir

---

[1]) Weisse Ratten erliegen nach Metschnikoff (Ann. de l'Inst. Pasteur 1890. No. 4) wiederholter Milzbrandimpfung stets. — Nach G. Frank (Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. No. 10) sind weisse Ratten dadurch stets sicher tödtlich mit Milzbrand zu inficiren, dass man ihnen einen Seidenfaden mit angetrockneten Milzbrandsporen (cf. oben p. 31) in die Bauchhöhle bringt. — Nach Behring und Nissen (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 418) sind besonders jüngere weisse Ratten empfänglich für Milzbrand. Verschiedene Rattensorten verhalten sich verschieden. Ceteris paribus wirkt am sichersten stets die Verimpfung von Blut oder Organstückchen, weniger sicher die Verimpfung frischer Agarcultur, noch weniger sicher die Verimpfung von Seidenfäden mit angetrockneten Sporen. — Charrin und Roger (Soc. de Biol. Paris. 19 janv. 1890) machten weisse Ratten durch Ermüdung (Gehen in der Tretmühle) milzbrandempfänglich. — Nach Hankin (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 722) sind wilde, braune, ausgewachsene Ratten bei Fleischfütterung ziemlich resistent gegen Milzbrand; mit Brot gefüttert bekommen die Thiere Milzbrandempfänglichkeit.

[2]) Nach Petruschky (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 79) ist hierzu eine Aussentemperatur von 31—35° C. nothwendig. Innerhalb des Körpers von Milzbrandfröschen findet man die Milzbrandbacillen vielfach zu langen schleifenförmigen Gebilden (cf. oben p. 199) ausgewachsen.

[3]) Brit. med. Journal. October 1889.

bereits (p. 71) sahen, verhalten sich Bacillensporen bei kurzdauernder Behandlung der Präparate mit der kalten Farblösung so, dass sie die Färbung hierbei nicht annehmen, während das Bacillenprotoplasma bei dieser Behandlung ja ohne Weiteres gefärbt wird. Fig. 35 auf Taf. VI zeigt Milzbrandfäden mit Sporen; das Präparat ist mit kalter Farblösung kurz behandelt. Das Bacillenprotoplasma ist gefärbt; die Sporen sind ungefärbt geblieben. Die Methoden, welche angegeben sind, die Sporen zu färben, kommen nun alle darauf hinaus, dass man die Präparate mit intensiv färbenden Lösungen bei höherer Temperatur längere Zeit behandelt, dass man also alle drei Momente berücksichtigt, die, wie wir sahen (p. 93), für die Intensität der Färbung in Betracht kommen. Was die Qualität der Farblösung angeht, so würde ich stets lieber die Ehrlich'sche (anilinwasserhaltige) als die Ziehl'sche (carbolwasserhaltige) Lösung anwenden, da die erstere aus oben (p. 95) näher dargelegten Gründen intensiver färbt als letztere.

Stets ausgezeichnete Sporenfärbung erhält man, wenn man auf folgende Weise verfährt: Man macht sich zunächst von dem sporenhaltigen Material ein Deckglaspräparat in der gewöhnlichen Weise zurecht, lässt es lufttrocken werden und fixirt es in der Flamme. Dann giesst man ein Uhrschälchen bis nahe zum Rande voll frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasser-Fuchsin-Lösung (cf. p. 94), welche nicht filtrirt zu werden braucht. Nun wirft man das Deckglas so auf die Farblösung, dass es, mit der Präparatenschicht nach unten, auf der Farbflüssigkeit schwimmt. Sollte es untersinken, so schadet das nicht viel.

Nun wird das Uhrschälchen mit der Lösung und dem Präparate erhitzt. Macht man dieses Erhitzen nicht nach gewissen zweckmässigen Regeln, so zerspringt Einem das Uhrschälchen sehr häufig; und das ist der Grund, weshalb viele Praktiker dieses Erhitzen im Uhrschälchen verwerfen. Folgendermassen aber vermeidet man das Zerspringen der Schälchen mit Sicherheit: Man benutzt zum Erhitzen nur eine sehr kleine Flamme, eine Flamme, die nicht höher als etwa 2 cm ist. Benutzt man den Bunsen'schen Brenner, so sperrt man die Luftzufuhr zur Flamme ab und schraubt dann die Flamme bis zur angegebenen Grösse hinunter[1]); benutzt man die Spirituslampe, so regulirt man die Grösse der Flamme an dem Dochte. In die kleine Flamme hinein bringt man nun das mit einer starken Pincette am

[1]) Ausgezeichnet für diesen Zweck sind die sogenannten Mikrobrenner, kleine Bunsen'sche Brenner mit engem Rohr, bei denen ein Zurückschlagen der Flamme unmöglich ist.

Rande erfasste Uhrschälchen so, dass nur seine Mitte erhitzt wird. Ist das Schälchen etwa 2 bis 3 Secunden in der Flamme geblieben, so bewegt man dasselbe langsam in vertikaler Richtung bis etwa zur Höhe von 10 cm oberhalb der Flamme. Während dieser Zeit wird das Schälchen durch die vertikal von der Flamme aufsteigenden Heizgase erhitzt. Nun geht man sofort wieder in die Flamme hinunter, bleibt darin wieder einige Secunden, geht wieder in die Höhe, wieder hinunter, und so fort, bis die Flüssigkeit beginnt Blasen zu entwickeln. In diesem Moment bricht man die Erhitzung ab, stellt das Schälchen auf den Tisch und lässt dasselbe eine Minute lang stehen. Nun erhitzt man wieder von Neuem bis zur Blasenbildung, lässt dann wieder eine Minute lang stehen. So erhitzt man das Schälchen etwa 5 Mal und lässt dasselbe eben so oft je eine Minute lang stehen.

Die Sporen — nicht nur die Milzbrandbacillensporen, sondern überhaupt vorhandene Bacillensporen — haben nun eine intensive Färbung, in unserm Falle eine Fuchsinfärbung, angenommen. Man bringt nun das Präparat, ohne es in Wasser abzuspülen, aus der heissen Farblösung in ein Uhrschälchen mit 3proc. Salzsäure-Alcohol (p. 98), und zwar so, dass die Präparatenseite nach oben gekehrt ist. Hier bleibt das Präparat etwa eine Minute. Zweckmässig bewegt man es in dieser Flüssigkeit (mit der Pincette) öfters hin und her. Nun wird das Präparat mit Wasser abgespült. Dasselbe wird jetzt makroskopisch ziemlich oder vollständig farblos erscheinen; denn bei der Einwirkung des stark entfärbenden Salzsäure-Alcohols haben nur die Sporen die Färbung behalten; alles Uebrige ist entfärbt worden. Nun färbt man das Präparat noch ganz kurz mit kalter wässeriger Methylenblaulösung nach, spült es wiederum mit Wasser ab, trocknet es und kittet es mit Balsam auf den Objectträger auf.

Betrachtet man das Präparat jetzt mikroskopisch, so findet man die Sporen wundervoll tiefroth tingirt, während das Bacillenprotoplasma blau gefärbt ist. Fig. 36 auf Taf. VI zeigt ein solches Sporenpräparat (Heubacillus, Bacillus subtilis) bei 1000facher Vergrösserung. Die tief dunkelen Stellen entsprechen den fuchsinroth gefärbten Sporen; die im Photogramm heller erscheinende Bacillensubstanz ist im Präparat blau gefärbt.

Tafel VII, Fig. 39, zeigt Bacillen mit endständigen Sporen (Tetanus) bei einfacher, kurz angewendeter Färbung mit kalter Fuchsinlösung; hier sind die Sporen ungefärbt geblieben, während sich das Bacillenprotoplasma gefärbt hat. In Fig. 40 sind Bacillen mit endständigen Sporen (Faulflüssigkeit) dargestellt, bei denen in der oben geschilderten

Weise eine Contrastfärbung der Sporen und der Bacillensubstanz hergestellt ist.

Statt der Ehrlich'schen Fuchsinlösung kann man übrigens auch sehr gut die entsprechende Gentianaviolettlösung (cf. p. 94) zur Sporenfärbung anwenden. Man färbt dann nach der Entfärbung der Bacillensubstanz das Präparat mit Bismarckbraun nach.

2. Der Bacillus des malignen Oedems.

Der Bacillus des malignen Oedems (Bacillus oedematis maligni, vibrion septique) wurde 1881 von R. Koch[1]) entdeckt. Er kommt in ganz ausserordentlicher Verbreitung in unserer Umgebung vor. Besonders in gedüngter Gartenerde finden wir ihn regelmässig, ferner in Schmutz und Staub, in Abwässern der Haushaltung; auch in dem Darmkanal der Thiere scheint er sich regelmässig vorzufinden.

Der genannte Bacillus ist etwas schmäler als der Milzbrandbacillus, ungefähr von derselben Länge wie dieser, hat aber im Gegensatz zum Milzbrandbacillus nicht scharf abgeschnittene, sondern abgestutzte, abgerundete Enden. Er zeigt eine schwache Eigenbeweglichkeit, welche durch Geisseln vermittelt wird, die nicht nur an den Enden, sondern auch an den Längsseiten des Bacillus in grösserer Anzahl angeheftet sind (cf. p. 14). Die Methode der mikroskopischen Darstellung der Geisseln ist oben (p. 75 ff.) beschrieben.

Der Bacillus ist ein strenger, obligater Anaërobe. Er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmer- und Brüttemperatur, aber nur unter Sauerstoffabschluss. (Die Züchtungsmethoden siehe oben p. 143 ff.) Taf. VII, Fig. 38, zeigt ein Gelatineröhrchen, in welchem die Gelatine zunächst geschmolzen wurde, um dann mit einer geringen Menge oedembacillenhaltigen Gewebssaftes der Maus vermischt zu werden. Man sieht, wie sich in den unteren, d. h. vom Sauerstoff abgeschlossenen Theilen der Gelatine eine Anzahl Colonien der Oedembacillen entwickelt haben. Dieselben bilden kugelförmige, mit Flüssigkeit erfüllte Hohlräume.[2]) Der Bacillus des malignen Oedems verflüssigt also, wie wir sehen, die Gelatine.

Nach Kitasato[3]) gelingt die Cultur der Bacillen des malignen Oedems mit Sicherheit jedesmal, wenn man die Milz eines an malignem

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 53 ff.

[2]) Das Aussehen der Culturen wurde zuerst von Liborius (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886. p. 159) beschrieben.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 111.

Oedem gestorbenen Meerschweinchens unmittelbar nach dem Tode unter Vermeidung von Verunreinigungen in Meerschweinchenbouillon (Nährbouillon, aus Meerschweinchenfleisch hergestellt)[1]) bringt und die Cultur unter Wasserstoff sich im Brütschrank entwickeln lässt. Die Bouilloncultur stinkt penetrant.

Der Bacillus des malignen Oedems bildet mittelständige Sporen.

Eine sehr grosse Anzahl von Thierspecies ist für die Infection mit dem Bacillus empfänglich. Es sind aber zum Zustandekommen der Infection besondere Bedingungen nöthig. Eine einfache cutane Impfung, wie sie beim Milzbrand zum Zustandekommen der Infection genügt, hat hier keinen Erfolg. Der vorhandene Sauerstoff macht eine Vermehrung des Bacillus unmöglich. Legt man dagegen bei einem empfänglichen Thiere (besonders Meerschweinchen und Mäuse eignen sich dazu) eine subcutane Hauttasche an, indem man die Cutis nach Enthaarung der zu operirenden Stelle durchtrennt und dann mit der (sterilisirten) Pincette das subcutane Gewebe lockert, und bringt man dann eine gewisse Quantität des Infectionsstoffes (man darf nicht allzuwenig nehmen), z. B. eine kleine Messèrspitze von Gartenerde, welche Sporen der Oedembacillen enthält, in die subcutane Tasche hinein, so sieht man nach Verlauf von einem bis zwei Tagen das Thier zu Grunde gehen. Bei der Section findet man ein allgemeines subcutanes Oedem und hierin massenhaft die beschriebenen Bacillen.[2]) In dem sauerstoffhaltigen Blute konnten die Bacillen nicht zur Vermehrung gelangen, sie fehlen deshalb bei der sofort nach dem Tode vorgenommenen Section im Blute und den inneren Organen; sie sind lediglich in dem sauerstoffarmen Subcutangewebe zu finden, wo sie sich haben vermehren können. Bleibt das Thier nach dem Tode liegen, so dringen nun die Oedembacillen aus dem Subcutangewebe in den sauerstoffarmen Organismus vor und durchwuchern schrankenlos alle Organe.

Am allerempfänglichsten für das maligne Oedem scheint sich die Maus zu verhalten. Die Maus zeigt bezüglich der Vertheilung der Bacillen in ihrem Körper ein von dem beschriebenen abweichendes Verhalten. Wir finden im Mäusekörper schon bei den ersten Krank-

[1]) Die Darstellung siehe Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889. p. 107.

[2]) Erfolgte die Infection nicht mit einer Reincultur der Oedembacillen, sondern (wie in unserem Beispiel) mit unreinem Material, z. B. Gartenerde, so finden sich in dem Oedemsaft neben den specifischen Oedembacillen noch andere Bakterien. Lüderitz (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888) hat aus dem Körper von Mäusen und Meerschweinchen, welche nach Infection mit Gartenerde gestorben waren, 5 verschiedene, nicht pathogene, anaërobe Bacillenarten reingezüchtet.

heitssymptomen Bacillen im Blute, namentlich in der Lunge.[1]) Die Bedingungen für die Vermehrung der Bacillen in dem Körper der Maus scheinen so günstige zu sein, dass gleich von vornherein die Bacillen in die Organe vordringen und die Gefässe durchbrechen; das hat dann zur Folge, dass schon frühzeitig die Bacillen durch das Blut in die Lunge etc. verschleppt werden.[2]) Fig. 37 auf Taf. VII zeigt Oedembacillen im Saft des Meerschweinchens bei 1000facher Vergrösserung.

Zwei Fälle von malignem Oedem beim Menschen haben Brieger und Ehrlich[3]) beschrieben. Es handelte sich um zwei Typhuskranke, die drei Tage nach der Application einer Moschusinjection, mit welcher zufällig Keime des malignen Oedems in das Unterhautgewebe gebracht worden waren, an malignem Oedem zu Grunde gingen. Nur unter dem Einflusse schwächender Momente (in den citirten Fällen des Typhus) scheint der Mensch für die Infection mit dem malignen Oedem empfänglich werden zu können. Eine Infection gesunder Menschen ist bisher nicht beobachtet.

Einen Fall von Mischinfection von malignem Oedem und Milzbrand hat Koch[4]) bei einem Meerschweinchen beschrieben.

Empfänglich sind für die Infection mit malignem Oedem Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen, Ziegen, Kälber, Schafe, Pferde, Esel, Schweine, Katzen, Hunde, Hühner, Tauben, Enten. Immun sollen sich Rinder verhalten. Die Passage durch den Körper der weissen Ratte soll die Virulenz des Bacillus abschwächen (Cornevin). Verschiedene Thierspecies können gegen die Infection immunisirt werden (cf. p. 184, Anm. 1).

Der Bacillus des malignen Oedems färbt sich mit kalten wässerigen Farbstofflösungen gut; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (cf. p. 100 ff.).

3. Der Tetanusbacillus.

Dass der Wundstarrkrampf eine von einem Individuum auf das andere übertragbare Infectionskrankheit sei, wurde zuerst von Carle und Rattone[5]) 1884 festgestellt. In demselben Jahre fand dann Nicolaier[6]) in Göttingen eine Gartenerde, welche, subcutan

---

[1]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 54.
[2]) cf. C. Fraenkel, Grundriss der Bakterienkunde. 3. Aufl. 1890. p. 298.
[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 44.
[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 67.
[5]) Giornale della R. accad. di med. di Torino. 1884.
[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 52.

auf Mäuse, Meerschweinchen, Kaninchen übertragen, die Erkrankung und den Tod der Thiere an Tetanus veranlasste. Die Krankheit liess sich, durch Uebertragung des Wundeiters, von Thier zu Thier weiter fortpflanzen. In der Umgebung der Infectionsstelle fand sich, und zwar stets in Gesellschaft anderer Mikroorganismen, ein langer, dünner, borstenförmiger Bacillus mit einer endständigen Spore (Köpfchenspore). Diesen Bacillus reinzuzüchten gelang nicht. Dann fand Rosenbach[1]) in einem Falle von Frostgangraen beim Menschen, der sich mit Tetanus complicirte, die Nicolaier'schen Stäbchen wieder, constatirte auch die Infectiosität des diese Stäbchen enthaltenden Materiales für Versuchsthiere. Eine Reinzüchtung gelang aber auch Rosenbach nicht. Sie gelang auch vielen anderen Untersuchern nicht, die im Uebrigen den characteristischen Bacillenbefund in ihren Fällen meist bestätigen konnten.

Erst Kitasato[2]) ist es gelungen, die Stäbchen mit den Köpfchensporen, welche übrigens als exquisit anaërobe Organismen auch vorher schon erkannt waren, reinzuzüchten, und zwar auf folgende Weise: Auf schräg erstarrtem Blutserum oder Agar wurde Tetanuseiter ausgebreitet; die Gläschen wurden bei 36—38° C. gehalten. Nach 48 Stunden fanden sich ausser anderen Bakterien auch borstenförmige Bacillen reichlich. Jetzt kam die Cultur auf $^3/_4$ bis 1 Stunde in das vorher auf 80° C. erhitzte Wasserbad, wobei die vegetativen Formen zerstört werden mussten. Nun wurde Nährgelatine mit einer Oese der Cultur gemischt und in Schälchen ausgegossen, in welche Wasserstoff geleitet wurde (cf. oben p. 145, Anm. 1). Diese Schälchen wurden bei 18—20° C. gehalten. Nach einer Woche fing hier die Bildung isolirter Colonien an, welche natürlich Reinculturen darstellten, und durch deren subcutane Einbringung bei Versuchsthieren jedesmal Tetanus erzeugt werden konnte.

Später gelang es Kitt[3]), aus Tetanuseiter auch ohne Zuhülfenahme der Erhitzungsprocedur[4]) sichere Reinculturen des Tetanusbacillus zu gewinnen. Das Ausgangsmaterial, welches nicht zu sehr durch fremde Spaltpilze verunreinigt sein darf, wurde mit sterilem Wasser stark verdünnt, und die Flüssigkeit dann in oberflächlichen

---

[1]) Langenb. Arch. Bd. 34. 1886.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 10.

[4]) Kitasato (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. p. 305) hat es Kitt gegenüber bestritten, dass die Reinzüchtung des Tetanusbacillus ohne die Erhitzungsprocedur möglich ist. Nach Kitasato gelingt es nur durch die Erhitzung zuverlässig, die begleitenden facultativen Anaëroben wegzuschaffen.

Impfstrichen (cf. p. 142) auf Pferde- oder Schafblutserum aufgeimpft. Die Culturen wurden in einer Atmosphäre gehalten, die nach der Buchner'schen Methode (p. 144) sauerstofffrei gemacht wurde.

Es möge hier bemerkt werden, dass es vielen Untersuchern bei Befolgung der Kitasato'schen Vorschrift nicht gelungen ist, aus tetanusbacillenhaltigem Material Reinculturen des Tetanusbacillus darzustellen. Wie Sormani[1]) und später auch Nicolaier[2]) betont haben, kann die Erhitzungsprocedur Kitasato's selbstverständlich nur dann zum Ziele führen, wenn zufällig neben den Tetanussporen nicht noch andere widerstandsfähige Sporen in dem zu erhitzenden Materiale vorhanden sind.[3])

Der Tetanusbacillus resp. seine Dauerform findet sich in grosser Verbreitung in unserer Umgebung. In Erde, Staub, Kehricht sind Tetanuskeime anzutreffen[4]); auch in Thierexcrementen (Pferd, Rind etc.) hat man sie öfters nachgewiesen.[5])

Der Tetanusbacillus ist etwas kleiner als der Bacillus des malignen Oedems, liegt oft einzeln; in den Culturen zeigt er sich aber oft zu langen Fäden ausgewachsen. Er hat eine deutliche, aber wenig lebhafte Eigenbewegung. Sporentragende Stäbchen sind übrigens stets unbeweglich (cf. p. 16). Der Bacillus ist obligat anaërob.

Er wächst, wenn man seine anaëroben Eigenschaften berücksichtigt, auf den gebräuchlichen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur; unter 14° C. findet kein Wachsthum statt. In Gelatine und Agar zeigt die Cultur feine strahlige Ausläufer (federartiges, distelartiges Aussehen). Die Gelatine wird langsam

---

[1]) Verhandl. d. 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Bd. 5. Abth. 15. p. 153.

[2]) Virch. Arch. Bd. 128. 1892.

[3]) Nicolaier (Virch. Arch. Bd. 128. 1892) glückte die Reincultivirung, indem er die zunächst erhaltenen unreinen Culturen 3½ Min. lang im strömenden Wasserdampf von 100° C. erhitzte und dann davon Platten anlegte. Auch hier wurde das Gelingen der Reincultur nur dem zufälligen Umstande verdankt, dass andere resistente Sporen in dem zu erhitzenden Materiale fehlten.

[4]) Nach Le Dantec (Ann. d. l'Inst. Pasteur. 1890. p. 716 ff.) stellen sich die Eingebornen der Neuen Hebriden tetanuserzeugende Giftpfeile dadurch her, dass sie die (knöchernen) Pfeilspitzen (unter Zuhülfenahme eines vegetabilischen Klebemittels) mit Sumpfschlamm überziehen.

[5]) Sormani (Verhandl. d. 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Bd. 5. Abth. 15. p. 152) tritt lebhaft für die „fäcale Theorie des Tetanus" ein. Nach dem Autor stammen die virulenten Tetanuserreger stets aus dem Darm von Thieren resp. aus Faeces; und zur Virulenzerhaltung des Tetanusbacillus ist öftere Passage durch den Darm nothwendig.

verflüssigt.[1]) Die Culturen haben einen widerwärtigen Geruch. Auf Blutserum wächst der Tetanusbacillus schlecht; das Blutserum wird nicht verflüssigt.[2])

Der Bacillus bildet endständige, kugelrunde Sporen, die dicker sind als der Bacillus. Dieselben werden bei Brüttemperatur in etwa 30 Stunden[3]), bei 20—25° C. erst nach 7 Tagen gebildet. Die Sporen ertragen im feuchten Zustande eine einstündige Erhitzung auf 80° C.; dagegen werden sie durch einen 5 Minuten langen Aufenthalt bei 100° C. im Dampfapparate getödtet. Unter natürlichen Verhältnissen vermögen die Tetanussporen ihre Keimfähigkeit ausserordentlich lange zu erhalten.

Fig. 39 auf Taf. VII zeigt sporentragende Bacillen, welche aus einer Agarstichcultur entnommen sind.

Der Tetanusbacillus färbt sich gut bei kurzer Behandlung mit kalten wässerigen Farblösungen; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Von Thieren sind für die Tetanusinfection hervorragend empfänglich das Pferd[4]) und das Meerschweinchen, etwas weniger Mäuse, noch weniger Kaninchen, noch weniger Ratten; Hammel[5]), Hunde, Tauben sind gering empfänglich; das Huhn[6]) ist unempfänglich für Tetanus. Werden die Thiere mit unreinem, ausser Tetanuskeimen noch andere Keime enthaltenden Materiale (Staub, Erde) inficirt, wie es bei der natürlichen Infection die Regel ist, so findet sich bei der Section an der Infectionsstelle Eiter, welcher (ausser anderen Bakterien) sporentragende Tetanusstäbchen enthält. Nie finden sich die Tetanusbacillen an anderen Stellen des Körpers als an der Infectionsstelle (cf. oben p. 175). Wird die Infection mit einer Reincultur bewirkt,

---

[1]) Wenn die Virulenz der Culturen sehr abgeschwächt ist, so wird die Gelatine nach Tizzoni und Cattani (Riforma medica 1891. No. 89. p. 158) nicht mehr verflüssigt.

[2]) cf. Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. p. 305. — Wenn die Virulenz der Bacillen sehr gross ist, so verflüssigen dieselben nach Tizzoni und Cattani (Riforma medica 1891. No. 89. p. 158) das Blutserum.

[3]) Nach einer Angabe von Brieger, Kitasato und Wassermann (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 150) bilden die Tetanusbacillen, in streng neutraler Peptonbouillon unter Wasserstoff im Brütschrank gezüchtet, während der ersten 30 Stunden, trotz sehr reichlichen Wachsthums, keine Sporen. Derartige, c. 24 Stunden lang gewachsene Culturen eignen sich vortrefflich, wenn es darauf ankommt, sporenfreies Tetanusmaterial zu haben.

[4]) Die Incubationsperiode beim Pferd beträgt nach Schütz (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 81) 4—5 Tage.

[5]) Die Incubationsperiode beim Hammel beträgt nach Schütz (ebenda) 2—4 Tage.

[6]) Ermittelung von Kitasato (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891. p. 301).

so ist nur Hyperaemie an der Impfstelle, aber keine Eiterung vorhanden; und es finden sich in solchen Fällen auch keine Tetanusbacillen bei der Section des Thieres: die Bacillen sind, obgleich sie typischen Tetanus veranlasst haben, spurlos im Thierkörper verschwunden.[1])

Wie bereits oben (p. 175) ausführlich erörtert wurde, gehört der Tetanusbacillus zu den toxischen Bakterienarten. Er wirkt deletär auf den empfänglichen Thierkörper ausschliesslich durch ein furchtbares specifisches Gift, welches er bei seiner Vermehrung auf dem (natürlichen oder künstlichen) Nährboden bildet. Dringen Tetanuskeime in das subcutane Gewebe eines empfänglichen Individuums ein (die anaërobe Natur des Tetanusbacillus gestattet, wie das auch beim Bacillus des malignen Oedems [p. 205] der Fall ist, die Infection nur vom Subcutangewebe aus), so vermehren diese Keime sich local an der Infectionsstelle und bilden hier das Tetanusgift, welches dann in das Innere des Körpers hineingelangt und die Allgemeinsymptome der Tetanuskrankheit bewirkt. Wir haben hier also primär eine Tetanusinfection (Vermehrung der Keime) und secundär eine daraus resultirende Tetanusintoxication. Da das Tetanusgift aber nicht bloss im inficirten Körper, sondern auch auf künstlichem Nährboden, in der Cultur, gebildet wird, so kann man auch eine primäre Intoxication erzielen, und zwar dadurch, dass man dem empfänglichen Thiere eine künstliche Tetanusbacillencultur (in zweckmässiger Dosis) einverleibt, welche auf passende Weise von den lebenden Tetanuskeimen befreit ist, das gelöste Gift aber enthält. Der Erfolg ist, mag die Intoxication eine secundäre oder eine primäre sein, derselbe: das empfängliche Thier erkrankt an Tetanus. Die Tetanusempfänglichkeit ist eine Empfänglichkeit für die specifische Vergiftung.

Durch ausschliessliche Verimpfung absolut giftfreier (durch Auswaschung von dem gelösten Gifte befreiter) Tetanuskeime (in nicht allzugrosser Quantität) gelingt es übrigens, nach Untersuchungen von Vaillard und Vincent[2]), nicht, Tetanuserkrankung zu erzeugen. Diese Keime scheinen allein, ohne fremde Beihülfe, im normalen Körper sich nicht vermehren zu können. Dagegen erlangen diese Keime, wie die genannten Autoren ermittelten, die Fähigkeit der Vermehrung und damit der Tetanuserzeugung, wenn zugleich mit ihnen fremde, die Infectionsstelle schädigende Dinge (z. B. etwas Milchsäure, etwas Trimethylamin, eine Cultur von Bac. prodigiosus etc.) dem Thierkörper eingeimpft werden, oder wenn die

[1]) Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. p. 231.
[2]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1891. p. 24 ff.

Impfstelle traumatisch geschädigt wird. Bei der Tetanusinfection, wie sie unter natürlichen Verhältnissen (durch Eindringen von Erde, Staub etc. in das verletzte Unterhautgewebe) stattfindet, gelangen nie Tetanuskeime allein, sondern stets zugleich andere Bakterienkeime in den Körper hinein, welche die Vermehrung der Tetanuskeime begünstigen.[1])

Das specifische Tetanusgift, welches in künstlichen Culturen des Tetanusbacillus gelöst enthalten ist und im tetanuserkrankten Körper mit den Säften circulirt[2]), ist seiner chemischen Natur nach noch ziemlich wenig bekannt. Durch Erhitzen wird es geschädigt. Bereits 5 Minuten lange Erhitzung auf 65° C., 20 Minuten lange Erhitzung auf 60° C., 1½ stündige Erhitzung auf 55° C. schädigt das Gift sehr erheblich; zu seiner völligen Zerstörung ist allerdings eine intensivere Einwirkung der Hitze nothwendig. Ebenso wirken auch Austrocknen bei Brüttemperatur, Einfluss des Lichtes, des Luftsauerstoffs, schädigend auf das Gift.[3]) Es ist sehr schwer, eine das Tetanusgift enthaltende Lösung in unveränderter Giftwirkung zu conserviren. Behring und Knorr[4]) fanden am zweckmässigsten hierfür einen Zusatz von 0,6 % Carbolsäure und Aufbewahrung in fest verschlossenen Flaschen.

So wie die Empfänglichkeit für den Tetanus als Empfänglichkeit

---

[1]) Inficirt man Versuchsthiere (weisse Mäuse, Meerschweinchen etc.) mit tetanussporenhaltiger Erde, und überträgt man nach dem Tode des Thieres von dem eitrigen Material der Infectionsstelle etwas auf ein neues Thier u. s. f., so gelingt es gewöhnlich nicht die Tetanuserkrankung über das dritte Thier hinaus zu erzeugen. Die erste, mit Erde geimpfte, Maus stirbt gewöhnlich nicht vor dem 3. bis 4. Tage an Tetanus; die Tetanussymptome entwickeln sich bei ihr sehr langsam und sind wenig characteristisch; das von dem ersten Thiere geimpfte zweite Thier erkrankt gewöhnlich bereits innerhalb 12 Stunden nach der Impfung unter klassischen, schnell sich steigernden Starrkrampferscheinungen und stirbt gewöhnlich vor Ablauf des ersten Tages nach der Impfung. Bei weiteren Uebertragungsversuchen von Thier zu Thier bekommt man, wie gesagt, sehr bald negative Resultate. Nach Vaillard und Rouget (Ann. de l'Institut Pasteur 1892. p. 428) ist der Grund hierfür der, dass die Bakterien, deren Mitübertragung die Vermehrung des Tetanusbacillus im Thierkörper ermöglicht oder begünstigt (siehe das Vorhergehende oben im Text), von Thier zu Thier eine „progressive Verminderung an Zahl und Wirksamkeit" erleiden.

[2]) Beim Menschen wies zuerst Nissen (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 24) das Gift in dem circulirenden Blute des Tetanischen nach. — Das Tetanusgift kann gelegentlich auch in den Harn übergehen. — Mit dem specifischen Tetanusgift haben nichts zu thun gewisse von Brieger aus Tetanusculturen hergestellte Alkaloide, von denen namentlich das Tetanin $C_{13}H_{30}N_2O_4$ äusserst giftig und starrkrampferregend wirkt.

[3]) Vergl. Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891, Vaillard und Rouget, Annales de l'Inst. Pasteur. 1892. No. 6.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893.

für die Vergiftung angesehen werden muss (cf. oben p. 210), so ist auch (durch Behring und Kitasato; siehe oben p. 187 ff.) die erworbene Immunität gegen den Tetanus als eine Immunität gegen die Vergiftung, als Giftfestigkeit erkannt worden. Wir haben oben (p. 191 ff.) des Näheren auseinandergesetzt, dass es gelingt tetanusempfängliche Thiere gegen Tetanus zu immunisiren und die künstliche Immunität künstlich weiter zu steigern; und wir sahen, dass das Blut und speciell das Blutserum der künstlich immunisirten Thiere tetanusgiftzerstörende Fähigkeiten besitzt, und dass diese Fähigkeiten sowohl im Reagenzglase wie im (tetanuskranken) Thierkörper zum Ausdrucke gelangen. Auf dieser tetanusgiftzerstörenden Eigenschaft des Blutserums tetanusimmunisirter Individuen beruht, wie wir sahen, die Möglichkeit, mit derartigem Serum tetanusempfängliche Individuen gegen Tetanus zu immunisiren und bereits erkrankte zu heilen.

Die Tetanusheilkörper, d. h. die in dem Blutserum immunisirter Individuen enthaltenen, immunisirend und heilend wirkenden chemischen Substanzen, sind ihrer chemischen Natur nach noch sehr wenig erforscht. Nach Behring und Knorr[1]) sind sie ausserordentlich widerstandsfähig gegen chemische, physikalische und atmosphärische Einflüsse; bei der Dialyse des Serums gehen sie in das Dialysat über und lassen in dem letzteren die characteristischen Eiweissreactionen durchaus vermissen.

4. Der Rauschbrandbacillus.

Vielfach mit Milzbrand verwechselt wurde früher eine Krankheit, welche zuerst 1876 von Feser und von Bollinger als „Rauschbrand“ fixirt und so vom Milzbrande getrennt wurde. Der Rauschbrand[2]) (charbon symptomatique) ist eine über die ganze Erde verbreitete, jedoch immer nur in bestimmten Gegenden heimische, sporadisch auftretende, sehr häufig mit Milzbrand zusammen vorkommende Infectionskrankheit, die fast nur Rinder, und zwar hauptsächlich junge (1—3 Jahre alte) Individuen, befällt und besonders in den Monaten Juni bis September auftritt, wo die Thiere auf die Weide getrieben werden. Der Krankheitsverlauf ist meist ein sehr stürmischer, fast stets tödtlicher. Die Thiere erkranken mit unregelmässig begrenzten,

---

[1]) Behring, Die Blutserumtherapie. I. Leipzig, G. Thieme, 1892. p. 52.

[2]) Die folgende Schilderung lehnt sich an die Skizze von Kitt (Centralbl. f. Bakt. Bd. 1. 1887. No. 23—25) an.

beim Ueberstreichen und Drücken deutlich knisternden („rauschenden". „Rauschbrand") Anschwellungen der Haut und Musculatur, besonders der Schenkel und Brust; dabei bestehen Störungen des Allgemeinbefindens und hohes Fieber, und 36—40 Stunden nach dem Beginn der Erkrankung erfolgt der Tod. Die Cadaver sind stark aufgetrieben. Das Unterhautgewebe stellt eine sulzige, gelblich oder blutig gefärbte Masse dar, welche die morsche, mit Gas durchsetzte, schwarzbraunrothe Musculatur bedeckt. In dem Gase fand Kitt 76 % Wasserstoff.

In dem erkrankten Gewebe findet sich ein specifischer Bacillus, welcher von Feser und Bollinger bereits als Erreger der Krankheit angesprochen wurde. Arloing, Cornevin und Thomas erhielten ihn in künstlicher Cultur, mit der sie Thiere erfolgreich inficiren konnten. Kitasato[1]) gelang es den Bacillus in festen Nährböden sicher rein zu cultiviren.

Der Rauschbrandbacillus ist 3 bis 6 μ lang, 0,5 bis 0,7 μ dick. In der Cultur liegen die Stäbchen meist einzeln. Sie zeigen mässig lebhafte Eigenbewegung. Jedes Exemplar besitzt zahlreiche Geisseln wie der Bacillus des malignen Oedems (cf. p. 204); dieselben lassen sich nach der Loeffler'schen Geisselfärbungsmethode (p. 75 ff.) mikroskopisch darstellen. In Blutserumculturen des Rauschbrandbacillus hat Loeffler[2]) gelegentlich seiner Studien über Geisselfärbung eigenthümliche, spiralig gedrehte, haarzopfähnliche Gebilde von verschiedenster Grösse angetroffen. Diese Gebilde, welche sich in Präparaten, die nach der Geisselfärbungsmethode behandelt sind, gefärbt zeigen, aber auch ungefärbt im hängenden Tropfen zu sehen sind, bestehen nach Loeffler's Ansicht vielleicht aus zusammengedrehten abgerissenen Geisseln. Diese Haarzöpfe wurden bei keiner anderen Bakterienart gefunden; sie wurden in Gelatineculturen der Rauschbrandbacillen ebenfalls vermisst.

Die Rauschbrandbacillen sind exquisite Anaëroben. Sie wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden, unter 14° C. nicht, bei 16—18° C. langsam, am besten zwischen 36 und 38° C. Die Rauschbrandbacillen verflüssigen die Gelatine; die Colonien erscheinen innerhalb derselben als kugelige, mit Flüssigkeit angefüllte Hohlräume, von denen aus die Bacillenfäden strahlig in die Gelatine hineinwachsen. Innerhalb der festen Nährsubstrate (Gelatine, Agar) findet bei dem Wachsthum Gasbildung statt. Bouillonculturen riechen nach ranziger Butter. Die Kartoffelculturen der Rauschbrandbacillen (in

---

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890.
2) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. p. 636.

sauerstofffreier Atmosphäre gezüchtet) haben Aehnlichkeit mit denen der Typhusbacillen: man bemerkt nur einen feuchten Glanz auf der Kartoffelfläche; entnimmt man etwas mit der Platinnadel, so fühlt man eine dicke, weiche, sich leicht ablösende Masse, die aus den Organismen besteht. (Blücher.)[1])

Der Rauschbrandbacillus bildet ovale Sporen, welche dicker sind als der Bacillus und dem einen Ende des Bacillus nahe stehen, so dass derselbe ein kolbenförmiges Aussehen bekommt. Die Sporen bilden sich in den künstlichen Culturen, bei Brüttemperatur schneller, bei Zimmertemperatur langsamer. Innerhalb des inficirten Thierkörpers bilden sich Sporen erst dann, wenn 24—48 Stunden nach dem Tode des Thieres verstrichen sind. Im Körper des kranken Thieres sowie in künstlichen Culturen werden sehr häufig Involutionsformen beobachtet; die Bacillen zeigen hier gewöhnlich mittelständige Auftreibungen, so dass Spindelformen zu Stande kommen.

Die Virulenz der Rauschbrandbacillen bleibt in den Culturen auf festem Nährboden dauernd erhalten.

Der Rauschbrandbacillus färbt sich gut mit kalten Farblösungen: er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Auf Menschen ist eine Uebertragung der Infection noch nicht beobachtet. Rinder, Schafe, Ziegen, Meerschweinchen sind leicht zu inficiren; Pferde, Esel, weisse Ratten zeigen nur vorübergehend locale Störungen; Schweine, Hunde, Katzen, Kaninchen[2]), gewöhnliche Ratten, Enten, Hühner, Tauben erscheinen nahezu immun; Mäuse sind wenig empfänglich. Frösche sterben an der Infection, wenn sie bei 22° C. gehalten werden (Arloing, Cornevin und Thomas). Die Infection wird stets nur durch subcutane Application veranlasst (wegen der anaëroben Natur des Erregers [cf. p. 205]).

Meerschweinchen, Schafe und Rinder können künstlich gegen Rauschbrandgift immunisirt werden (cf. p. 184, Anm. 1). Kitt[3]) fand, dass getrocknetes Rauschbrandfleisch durch 6 stündige Erhitzung im strömenden Dampfe von 100° C. in einen zur Immunisirung brauchbaren Impfstoff verwandelt wird.

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 8. 1890. p. 503.

[2]) Roger (Acad. des sc. Paris. 1889) fand, dass die natürliche Immunität des Kaninchens gegen Rauschbrand durch gleichzeitig mit der Rauschbrandimpfung erfolgende Einverleibung der Stoffwechselproducte von Bac. prodigiosus, Staphylococcus aureus und von anderen Bakterienarten künstlich aufgehoben werden kann.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 18—19.

5. Der Tuberkelbacillus (Bacillus der Säugethiertuberculose).

Der Erste, welcher durch Einbringung tuberculösen Materiales experimentell Tuberculose bei Thieren erzeugte, war Klencke[1]) (1843). Weiterhin kam dann auf Grund planmässiger Experimente Villemin[2]) (1865) dazu, die Tuberculose mit Sicherheit als Infectionskrankheit anzusprechen. Durch Cohnheim und Salomonsen[3]) (1877), welche die Impfung in die vordere Augenkammer (cf. p. 173) des Kaninchens (und Meerschweinchens) einführten, wurde an der Hand dieses Infectionsmodus der sichere Nachweis geführt, dass ausschliesslich die Uebertragung tuberculösen Materiales Tuberculose hervorruft.

War durch die Untersuchungen von Villemin und von Cohnheim der infectiöse Character der Tuberculose auch so gut wie sichergestellt, so sollte es doch R. Koch vorbehalten bleiben, die Aetiologie der Tuberculose festzustellen.

Durch die Arbeiten R. Koch's[4]) wurde zunächst festgestellt, dass eine bestimmte Art von Bacillen, welche sich durch ein ganz specifisches Färbungsverhalten von den übrigen bekannten Bakterienarten unterscheidet, regelmässig und ausschliesslich bei der Tuberculose gefunden wird, ferner, dass diese Bacillen örtlich und zeitlich allen der Tuberculose eigenthümlichen Veränderungen vorangehen, und dass ihre Anzahl, ihr Erscheinen und Verschwinden in directem Verhältniss zum Verlauf der Tuberculose steht.[5]) Weiter gelang es Koch die für die Tuberculose specifischen Bacillen künstlich zu züchten, die vollkommenste Uebereinstimmung der von dem verschiedensten Ausgangsmateriale gewonnenen künstlichen Culturen darzuthun und durch Uebertragung der durch beliebig viele Culturgenerationen hindurchgegangenen Bacillen in den Körper empfänglicher Thiere mit Sicherheit den Nachweis zu führen, dass die Tuberkelbacillen die Ursache der Tuberculose sind. Aus seinen Gesammtuntersuchungen aber konnte Koch[6]) den stolzen Schluss ziehen, „dass

---

[1]) Untersuchungen und Erfahrungen im Gebiete der Anatomie, Physiologie, Mikrologie, wissenschaftlichen Medicin. Von Prof. H. Klencke. Leipzig, Fest'sche Verlagsbuchhandlung. 1843. Bd. 1. p. 123. (Citirt nach Waldenburg, Die Tuberculose, die Lungenschwindsucht und Scrophulose. Berlin (Hirschwald) 1869. p. 198.)

[2]) Acad. de méd. Paris. 4 déc. 1865. (Erfolgreiche Impfungen der Tuberculose vom Menschen auf das Kaninchen.)

[3]) Schles. Ges. f. vaterl. Cultur. 13. Juli 1877. (Jahresber. p. 222.)

[4]) Vortrag in d. physiolog. Gesellsch. zu Berlin am 24. März 1882. (Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15.) — Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

[5]) cf. Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 46.

[6]) Ebenda p. 76.

die Tuberkelbacillen nicht bloss eine Ursache der Tuberculose, sondern die einzige Ursache derselben sind, und dass es ohne Tuberkelbacillen keine Tuberculose giebt."

Die Tuberkelbacillen finden sich, wie schon gesagt, bei jedem tuberculösen Process, mag derselbe nun als miliare Tuberculose, Lungenschwindsucht[1]) oder Darmphthisis, Tuberculose einzelner Organe, Scrophulose der Drüsen, fungöse Entzündung der Gelenke, Lupus auftreten. Und wie bei der Tuberculose des Menschen, so finden sich die Tuberkelbacillen auch bei der Tuberculose der Thiere: bei der Perlsucht des Rindes, der Tuberculose des Pferdes, des Schweines, der Ziege, des Schafes, des Affen, Meerschweinchens, Kaninchens etc. „Am sichersten trifft man die Bacillen dort an, wo der tuberculöse Process im ersten Entstehen oder im raschen Fortschreiten begriffen ist." [2])

Bei der Hühner- (Geflügel-) Tuberculose finden sich Bacillen, die in ihrem Aussehen und in ihrem Verhalten gegen Anilinfarben mit den gewöhnlichen Tuberkelbacillen vollkommen übereinstimmen, und die von Koch zunächst mit den letzteren für identisch angesehen wurden. Es haben sich jedoch späterhin (Maffucci, Koch) Unterschiede zwischen den Hühnertuberculosebacillen und den gewöhnlichen Tuberkelbacillen ergeben, die namentlich in dem Aussehen der künstlichen Culturen hervortreten; und Koch[3]) ist demnach der Ansicht, dass die Bacillen der Hühnertuberculose eine für sich bestehende, aber den echten Tuberkelbacillen (den Bacillen der Säugethiertuberculose) sehr nahe verwandte Art darstellen. Wir werden die Bacillen der Geflügeltuberculose zum Gegenstande einer besonderen Betrachtung machen.

Koch hatte die Ansicht ausgesprochen, dass bei der Entstehung der Tuberkel im Gewebe hauptsächlich Wanderzellen betheiligt seien, die die Verschleppung der Bacillen von einem Orte zum anderen bewirkten. Durch den Reiz, welchen der Bacillus auf die Zelle ausübt, wird die letztere bald unfähig, ihre Wanderung weiter fortzusetzen.

---

[1]) Die ulceröse Lungenphthisis ist stets eine Mischinfection, bei der ausser Tuberkelbacillen noch andere Bakterienarten, am häufigsten Streptococcen, betheiligt sind (cf. Kitasato, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 444; Cornet, Wiener med. Wochenschr. 1892. No. 19—20; Petruschky, Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 14). Die bei der Phthisis die Tuberculose complicirende secundäre Streptococceninfection kann zu einer Ueberschwemmung des gesammten Organismus mit Streptococcen, zu einer richtigen Septicaemie, führen. Koch bezeichnet (cf. Deutsche med. Wochenschr. 1893. p. 317) die Curve des hektischen Fiebers als „Streptococcencurve."

[2]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 17.

[3]) 10. Internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 39.

Es entsteht aus ihr eine epithelioide Zelle und daraus dann die tuberculöse Riesenzelle. Damit ist das Centrum für den Tuberkel geschaffen. Baumgarten[1]) ist nach seinen Untersuchungen zu der Ueberzeugung gelangt, dass bei der ersten Entstehung des Tuberkels die fixen Gewebszellen, namentlich die Bindegewebszellen, wesentlich mitbetheiligt sind. Aus ihnen werden durch Karyokinese junge Zellen neugebildet, welche epithelioiden Character haben. Die Bacillen brauchen nicht durch Wanderzellen verschleppt zu werden, sondern es genügt zur Weitertransportirung der Bacillen (welche ohne Eigenbewegung sind) der Saftstrom in Verbindung mit der Wachsthumsbewegung der Tuberkelbacillen. Der histologische Befund bei der Tuberkelbildung ist übrigens ein ganz verschiedener je nach der Art des die Infection bewirkenden Materiales und je nach dem Ort, an dem sich der Tuberkel entwickelt. Die bei der Tuberkelbildung auf die Neubildung von Zellen stets folgende centrale Verkäsung ist als Nekrose der Zellsubstanz (Weigert's Coagulationsnekrose) aufzufassen, die durch den deletären Einfluss der Bacillen zu Stande kommt. Die tuberculösen Riesenzellen, welche sich bekanntlich durch randständige Kerne auszeichnen, sind nach Weigert's Ermittelungen partiell (central) verkäste (nekrotisch gewordene) Zellen.

Die Tuberkelbacillen sind feine Stäbchen von 1,6 bis 3,5 μ Länge, welche übrigens bei der Färbung mit Methylenblau dünner, mit Gentianaviolett oder Fuchsin gefärbt dicker erscheinen und häufig eine Gliederung (ungefärbte Stellen im gefärbten Bacillus) erkennen lassen. Sie sind gewöhnlich nicht ganz gerade gestreckt, sondern zeigen leichte Biegungen und Krümmungen. Sie liegen im Gewebe meist einzeln. In künstlichen Culturen und auch dort, wo sie im Thierkörper sich unbeeinflusst von lebenden Zellen entwickeln können (in vollständig abgestorbenem Gewebe) kommt es zur Bildung typisch gestalteter Gruppirungen der Bacillen. Man sieht dann bei schwachen Vergrösserungen besonders S-förmig geschwungene, in der Mitte spindelförmig verdickte, an den Enden zugespitzte Figuren, welche aus zusammengelagerten Bacillen gebildet sind.

Eigenbeweglichkeit geht den Tuberkelbacillen vollständig ab.

Die Tuberkelbacillen wachsen, wie Koch fand, vortrefflich auf erstarrtem Blutserum, welches man sich in der oben (p. 118) beschriebenen Weise präparirt. Die Cultivirung der Tuberkelbacillen ist eine sehr schwierige Aufgabe. „Am sichersten gelingen die Reinculturen, wenn zur Aussaat ein bacillenreicher Tuberkel oder ebensolche

---

[1]) cf. Lehrbuch der pathol. Mykologie. Bd. 2. 1890. p. 555 ff.

Substanz aus dem Innern von noch wenig verkästen Lymphdrüsen eines getödteten tuberculösen Meerschweinchens genommen wird.[1]) Damit die Cultur aber glückt, ist die Vermeidung irgend welcher Verunreinigungen durchaus nothwendig. Die Section des Cadavers, aus dem das Material entnommen werden soll, muss möglichst bald nach dem Tode vorgenommen werden. Die Haut wird, nach äusserlicher Durchfeuchtung mit Sublimatlösung, mit ausgeglühter, noch heisser Schere durchschnitten; es werden darauf mit anderen durch Ausglühen sterilisirten Instrumenten die tuberculösen Organe blossgelegt und mit wiederum neuen sterilen Instrumenten einzelne Tuberkelknötchen herauspräparirt. Nachdem ein solches Tuberkelknötchen zwischen sterilen Skalpellen zerdrückt ist, wird die zerdrückte Masse mit starkem Platindraht auf das Blutserum ausgestrichen oder vielmehr in die Oberfläche desselben eingerieben. Solcher Röhrchen werden immer gleich eine grössere Anzahl inficirt, weil das eine oder das andere derselben durch fremde Keime, welche trotz aller Vorsicht sich eingeschlichen haben könnten, eventuell verloren sein könnte. Derartige Verunreinigungen wachsen stets schneller als die Tuberkelbacillen; und es ist demnach behufs der Anlegung einer künstlichen Cultur von Tuberkelbacillen aus dem Thierkörper stets durchaus nothwendig, von einer bereits bestehenden (natürlichen) Reincultur auszugehen und dieselbe ohne Verunreinigungen auf den sterilen Nährboden zu übertragen.

Die in der beschriebenen Weise beimpften Blutserumröhrchen werden dann (wie wir bereits oben p. 147 auseinandergesetzt haben) mit frisch abgebranntem Wattepfropf verschlossen; über die Oeffnung des Röhrchens wird eine in Sublimatlösung sterilisirte Gummikappe gezogen, welche einen luftdichten Abschluss bewirkt und den Nährboden bei dem nun folgenden Aufenthalte im Brütschrank vor Verdunstung und Austrocknung bewahrt.

Die Tuberkelbacillen gedeihen unter 29° C. nicht; ebenso wachsen sie nicht mehr bei 42° C. Das Optimum der Temperatur liegt bei 37—38° C. Bei der letzteren Temperatur erscheinen auf dem Blutserum mikroskopisch bereits nach 5—6, makroskopisch erst nach 10—15 Tagen kleine, trockene, weisse, der Oberfläche des erstarrten Serums lose aufliegende Schüppchen von starrer, brüchiger Consistenz, welche ganz aus aneinander klebenden Bacillen bestehen. Ist die Cultur aus vereinzelten Keimen hervorgegangen, so zeigen die Colonien, bei schwacher Vergrösserung betrachtet, die oben erwähnte S-förmige, spindelartige Gestalt. Das Blutserum wird nicht verflüssigt.

[1]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 49.

Als Blutserum eignet sich zur Cultur am besten solches vom Hammel, Rind oder Kalb. Auch auf Bouillon gedeihen die Tuberkelbacillen, ebenso auf gewöhnlichem Nähragar, wenn auch nicht so gut wie auf Blutserum. Auf dem Agar kommt es zur Bildung compacter unförmlicher Massen. Nocard und Roux[1]) haben gefunden, dass ein Zusatz von 6—8 % Glycerin[2]) zu Bouillon und zu Agar dieselben viel geeigneter zum Nährboden für Tuberkelbacillen macht, als sie es ohne diesen Zusatz sind. Bonhoff[3]) hat neuerdings gefunden, dass sich zur Cultur der Tuberkelbacillen ganz besonders eine aus gesunder Kalbslunge hergestellte, mit 4 % Glycerin versetzte Bouillon eignet. Dieser Nährboden scheint ein kräftigeres Wachsthum der Tuberkelbacillen zu gestatten als alle anderen bekannten künstlichen Nährböden. Auf Bouillon gedeihen die Tuberkelbacillen, ihrem starken Sauerstoffbedürfnisse entsprechend, nur auf der Oberfläche des Nährbodens.

Pawlowsky[4]) gelang es auch die Tuberkelbacillen auf der Kartoffel zu cultiviren. Neuerdings hat Sander[5]) die Cultivirung der Tuberkelbacillen auf pflanzlichen Nährböden überhaupt zum Gegenstande eingehender Studien gemacht. Sander fand, dass auf einer ganzen Reihe derartiger Nährböden die Züchtung der Tuberkelbacillen leicht gelingt, dass aber ihre Virulenz dabei stets geschädigt wird. Ausserordentlich üppig wachsen nach den Ermittelungen des Autors die Tuberkelbacillen auf einer (sauren) mit 4 % Glycerin versetzten Kartoffelbrühe.[6])

Neuerdings hat Koch[7]) eine Methode angegeben, die Tuberkelbacillen direct aus phthisischem Sputum zu cultiviren. Da das Sputum stets noch andere Bakterien enthält, so kommt Alles

---

1) Annales de l'Inst. Pasteur. 1887. No. 1.

2) Nach den Untersuchungen von Hammerschlag (Centralbl. f. klin. Med. 1891. No. 1. p. 15) brauchen die Tuberkelbacillen (im Gegensatz zu allen übrigen bekannten Bakterienarten) Kohlehydrate oder Glycerin nothwendig zum Wachsthum.

3) Hyg. Rundschau. 1892. No. 23.

4) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 6.

5) Arch. f. Hyg. Bd. 16. 1893.

6) 100 g zerriebene Kartoffel werden mit 300 ccm Wasser versetzt und über Nacht in den Eisschrank gestellt. Aus dem Gemische werden (durch ein Seihtuch hindurch) 300 ccm Kartoffelsaft ausgepresst; der letztere wird 1 Stunde lang auf dem Wasserbad gekocht, darauf filtrirt, mit 4 % Glycerin versetzt, sterilisirt und ist dann zum Gebrauche fertig.

7) Durch Kitasato publicirt (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892). — Bei dieser Gelegenheit fand Kitasato, dass die in phthisischem Sputum vorhandenen Tuberkelbacillen gewöhnlich zum grössten Theile abgestorben sind, wenn sie sich auch noch in normaler Weise färben lassen.

darauf an, diese letzteren möglichst zu entfernen. Koch lässt zu diesem Zwecke den Kranken nach sorgfältiger Reinigung der Mundhöhle in ein sterilisirtes Petri'sches Schälchen aushusten. Die ausgehustete Schleimflocke wird dann in oft erneuertem sterilisirten Wasser ausgewaschen; und es wird nun — nach geschehener mikroskopischer Prüfung — ein mit sterilisirten Instrumenten aus der Mitte der Flocke entnommenes Partikelchen auf Glycerinagar oder Blutserum ausgestrichen. Die Culturröhrchen kommen nach luftdichtem Abschluss (p. 218) in den Brütschrank. Gelingt der Versuch, so entwickeln sich binnen 2 Wochen Colonien von Tuberkelbacillen auf der Oberfläche des Nährbodens, welche zunächst gewisse Differenzen von den Colonien, welche bei der Cultivirung der Tuberkelbacillen aus dem Thierkörper entstehen, darbieten: die Colonien stellen kreisrunde, rein weisse, feucht glänzende, glatte, undurchsichtige Flecken dar. Später verwischen sich die Differenzen in dem Aussehen der so erhaltenen Colonien von dem der aus dem Thierkörper gezüchteten.

Ein anderes Verfahren, Tuberkelbacillen direct aus Sputum zu cultiviren, hat Pastor[1]) angegeben. Das möglichst ohne Verunreinigungen (wie oben bei dem Koch'schen Verfahren) gewonnene, in sterilisirtem Wasser abgespülte Sputum wird durch Schütteln in sterilisirtem Wasser zu einer feinen Suspension aufgeschwemmt; die Aufschwemmung wird in geschmolzener Nährgelatine vertheilt, und die letztere wird zur Platte ausgegossen. Nach 3—4 Tage langem Stehen bei Zimmertemperatur werden auf der Platte die durchsichtig gebliebenen Stellen, d. h. die Stellen, an denen sich keine Colonien (die nur verunreinigenden Bakterien zugehören können) entwickelt haben, aufgesucht; diese Stellen werden mit sterilisirtem Messer ausgeschnitten, auf Blutserum gebracht, und das letztere wird in den Brütschrank gestellt. In etwa 10 $^0/_0$ der geimpften Röhrchen entwickeln sich Reinculturen von Tuberkelbacillen.

Die Tuberkelbacillen bewahren bei der fortlaufenden Züchtung auf künstlichem Nährboden[2]) ihre Eigenschaften sehr hartnäckig. Koch[3]) züchtete Reinculturen seit mehr als neun Jahren im Reagenzglase fort: diese Culturen, die seitdem nie wieder in einen lebenden Körper gelangten, haben sich bis auf eine geringe Abnahme der Virulenz vollkommen unverändert erhalten.

Die Culturen der Tuberkelbacillen müssen, wenn ihre Uebertragbarkeit erhalten bleiben soll, sorgfältig vor Licht geschützt

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 8.
[2]) Auf pflanzlichen Nährböden (siehe p. 219) wird die Virulenz geschädigt.
[3]) 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. I. p. 39.

werden. Durch directes Sonnenlicht werden Tuberkelbacillen je nach der Dicke der Schicht, in welcher sie dem Sonnenlichte ausgesetzt werden, in wenigen Minuten bis einigen Stunden getödtet. Das zerstreute Tageslicht übt, wenn auch entsprechend langsamer, dieselbe Wirkung aus; die Culturen der Tuberkelbacillen sterben, wenn sie dicht am Fenster aufgestellt sind, in 5—7 Tagen ab (Koch).[1])

Nach seinen ersten Untersuchungen war Koch der Ansicht, dass der Tuberkelbacillus — sowohl in der künstlichen Cultur wie im Thierkörper — Sporen bildet: Die sporentragenden Stäbchen sind analog den sporenhaltigen Milzbrandfäden gebaut, sie sind nur viel kleiner. Der Bacillus zeigt hierbei eine deutliche Gliederung (cf. p. 217). Es sind in jedem Bacillus 2 bis 6 Glieder vorhanden, welche je eine stark glänzende, eiförmige Spore enthalten.[2]) Ob diese Gebilde aber mit Sicherheit als „Sporen" anzusprechen sind, erscheint neuerdings wieder zweifelhaft.[3]) Die Tuberkelbacillen sind als solche, d. h. in ihrer rein vegetativen Form, bereits durch eine viel grössere Resistenz[4]) gegen äussere Einflüsse ausgezeichnet, als sie sonst vegetativen Bakterienzellen zukommt. Diese Resistenz findet auch in der (weiterhin ausführlich zu besprechenden) Eigenschaft des Tuberkelbacillus, aus Farblösungen erst bei intensiver Behandlung mit den letzteren (cf. p. 98) Farbstoff in sich aufzunehmen, deutlichen Ausdruck. Aus der Resistenz tuberkelbacillenhaltigen Materials gegen äussere Angriffe kann also nicht auf das Vorhandensein von Sporen geschlossen werden; diese Resistenz lässt sich ungezwungen aus den genannten Eigenschaften der Bacillensubstanz an sich erklären. Die Frage, ob Sporenbildung bei dem Tuberkelbacillus besteht, würde erst dann definitiv in positivem Sinne entschieden werden können, wenn es gelänge an den fraglichen Gebilden eine Auskeimung zu beobachten.

Jedenfalls ist es also bis auf Weiteres nicht mehr statthaft, die in gefärbten Präparaten in den Tuberkelbacillen so häufig aufzufindenden ungefärbten Lücken (p. 217) als „Sporen" anzusprechen.

Wie bereits mehrfach mitgetheilt, unterscheiden sich die Tuberkel-

---

[1]) 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. I. p. 42.

[2]) Koch, Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 22.

[3]) cf. C. Fraenkel, Grundriss d. Bakterienk. 3. Aufl. 1890. p. 308.

[4]) Während vegetative Bakterienzellen im Allgemeinen (cf. oben p. 23) durch Erhitzung auf c. 56° C. in kurzer Zeit vernichtet werden, werden Tuberkelbacillen in Reinculturen erst durch 10 Min. langes Erhitzen auf 70° C. getödtet (Yersin, Ann. de l'Institut Pasteur. 1888. No. 2; Bonhoff, Hyg. Rundschau, 1892. No. 23). — In 3 Jahre lang eingetrockneten phthisischen Sputum fand Stone (Amer. Journ. of the Med. Sciences. March 1891) die Tuberkelbacillen nicht allein von normaler Färbbarkeit, sondern auch von nur wenig abgeschwächter Virulenz.

bacillen in ihrem Färbungsverhalten dadurch von allen anderen Bakterienarten, dass sie die Färbung durch basische Anilinfarbstoffe schwerer annehmen, und dass sie dementsprechend, wenn sie einmal gefärbt sind, sich auch Entfärbungsmitteln gegenüber schwerer zugänglich verhalten als andere Bakterienarten. Wenn man Tuberkelbacillen färben will, so muss man deshalb die Farbstoffe besonders intensiv einwirken lassen; man hat aber in diesem specifischen Verhalten der Tuberkelbacillen ein Mittel, dieselben mit Sicherheit nachzuweisen. Der Praktiker, der die Methoden zur Darstellung der Tuberkelbacillen im gefärbten Präparate beherrscht, hat damit die Fähigkeit, im gegebenen Falle zu entscheiden, ob es sich um Tuberculose handelt oder nicht.

Die ursprüngliche Methode, welche Koch zur Sichtbarmachung der Tuberkelbacillen anwandte, war folgende[1]: Der Schnitt oder das Trockenpräparat kam auf 20—24 Stunden bei Zimmertemperatur (auf $^1/_2$ bis 1 Stunde bei 40° C.) in eine Mischung von

200 ccm dest. Wasser,
1 ccm concentr. alcohol. Methylenblaulösung,
0,2 ccm 10 proc. Kalilauge.

Das dann dunkelblau gefärbte Präparat wurde in Wasser abgespült und gelangte für 15 Minuten in eine concentrirte wässerige Lösung von Vesuvin (Bismarckbraun). Dann wurde das Präparat in Wasser abgespült und in der gewöhnlichen Weise weiter behandelt, um zur Untersuchung in Balsam eingeschlossen zu werden. Die Tuberkelbacillen erscheinen dann blau, die übrigen Bakterien und die Kerne des Gewebes braun.

Ehrlich[2]) erreichte eine erheblich schnellere und intensivere Färbung der Tuberkelbacillen durch Anwendung seiner bereits oben (p. 94) besprochenen Anilinwasser-Farbstofflösungen. Ferner fand Ehrlich die schon mehrfach erwähnte Thatsache, dass die Tuberkelbacillen, einmal gefärbt, sich gegen starke Entfärbungsmittel (verdünnte Säuren) resistent verhalten.

Das von Ehrlich construirte und von Koch acceptirte Färbungsverfahren resp. Darstellungsverfahren der Tuberkelbacillen gestaltet sich danach folgendermassen[3]: Die Objecte (Schnitte oder Deckglaspräparate) kommen für mindestens 12 Stunden bei Zimmertemperatur (oder kürzere Zeit bei höherer Temperatur) in die Ehrlich'sche Lösung.

---

1) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 5. — Berl. klin. Wochenschr. 1882. No. 15.

2) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 270.

3) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 10.

werden dann einige Secunden mit 25proc. Salpetersäurewasser behandelt, dann einige Minuten in 60proc. Alcohol gespült und hinterher in verdünnter Bismarckbraun- resp. Methylenblaulösung (je nachdem die erste Färbung mit Violett oder Fuchsin vorgenommen wurde) nachgefärbt. Dann nochmaliges Spülen in 60proc. Alcohol, Entwässern in absolutem Alcohol, Aufhellen in Cedernöl. Nun kommt die mikroskopische Untersuchung des Präparates. Dasselbe wird zum Schluss in Balsam eingelegt, wenn es conservirt werden soll.

Ziehl[1]) empfahl dann seine oben (p. 95) angegebene Carbolsäurefuchsinlösung zur Färbung der Tuberkelbacillen.

B. Fraenkel[2]) empfahl, bei Deckglaspräparaten die Entfärbung und die Nachfärbung gleichzeitig vorzunehmen. Das mit Anilinwasserfuchsin gefärbte Deckglaspräparat gelangt in eine Flüssigkeit, welche aus 50 Wasser, 30 Alcohol, 20 Salpetersäure und Methylenblau bis zur Sättigung besteht. Wenn das Präparat blau erscheint, wird es in Wasser abgespült und dann in Wasser untersucht.

Der Verf. wendet seit Jahren zur Darstellung der Tuberkelbacillen in Deckglastrockenpräparaten folgendes Verfahren[3]) an: Das mit Sputum etc. auf die bekannte Weise (cf. p. 57) hergestellte, an der Luft getrocknete und zur Fixirung 3 Mal durch die Flamme gezogene Deckglas bringt man

1) (mit der Präparatenschicht nach unten) auf die Oberfläche frisch bereiteter Ehrlich'scher Anilinwasser-Fuchsinlösung (p. 94), welche in ein Uhrschälchen eingefüllt ist (Filtriren ist nicht nothwendig) und das Schälchen fast vollständig erfüllt. Sinkt das Gläschen in der Flüssigkeit unter, so schadet dieses nichts.

2) Das Schälchen wird mit starker Pincette am Rande erfasst und über kleiner Flamme in der oben (p. 202) geschilderten Weise bis zur Blasenbildung der Flüssigkeit erhitzt.

3) Das Schälchen wird jetzt hingestellt und bleibt eine Minute lang ruhig stehen.

4) Das Deckglas wird mit kleiner Pincette aus der Farbe genommen, umgedreht (so dass die Präparatenschicht nach oben sieht) und in ein Uhrschälchen mit 3proc. Salzsäure-Alcohol (cf. p. 98) gelegt; hierin wird das Deckglas eine Minute lang hin und her, auf und ab bewegt.

---

[1]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1882. p. 451.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1884. No. 13.

[3]) Dies Verfahren ist durchaus zuverlässig. Damit soll aber nicht gesagt sein, dass es in diesem Punkte vor den anderen citirten Methoden etwas voraus hätte.

5) Das Deckglas wird mit der Pincette aus dem Säure-Alcohol genommen, und es wird nun durch einen Wasserstrahl (jede Wasserflasche kann man dazu benutzen) zunächst die Flüssigkeit zwischen den Branchen der Pincette weggespült, dann das Gläschen selbst beiderseitig abgespült.

6) Aufträufeln weniger Tropfen verdünnter wässeriger (oder wässerig-alcoholischer) Methylenblaulösung mit der Pipette. Die Färbung soll hier nur ganz gering werden, damit die Bacillenfärbung nicht hier und da durch die Grundfärbung verdeckt werde.

7) Abspülen in Wasser. (Zunächst werden wieder die Pincettenbranchen ausgespült.)

8) Das Deckglas wird mit den Fingern erfasst, die Präparatenseite kräftig abgeblasen, die leere Seite mit Hülfe eines Läppchens abgewischt.

9) Nach dem Trocknen drei- bis zehnmaliges Ziehen durch die Flamme.

10) Aufkitten mit Xylol-Balsam auf den Objectträger.

Das Präparat ist nun zur Untersuchung fertig. Die Methode ist eine absolut zuverlässige. Sämmtliche gefärbte Tuberkelbacillen sind stets intensiv, und mit gleicher Intensität, gefärbt. Daraus folgt, dass es nicht möglich ist, dass bei dieser Behandlung Tuberkelbacillen ungefärbt bleiben; denn sonst müsste man hier und da auch Exemplare finden, die, als Uebergänge zwischen den intensiv gefärbten und den gar nicht gefärbten Bacillen, nur wenig intensiv gefärbt wären. Diese Betrachtung ist nicht überflüssig; denn wir wissen durch Untersuchungen von Ehrlich[1]), dass die in einem und demselben Präparate vorhandenen Tuberkelbacillen sich gegen eine und dieselbe Farbstofflösung durchaus nicht gleichartig zu verhalten brauchen.

Das unter Nummer 9) aufgeführte Ziehen des Präparates durch die Flamme vor dem Einschlusse in Balsam bezweckt die Erreichung einer dauernden Haltbarkeit der Färbung der Tuberkelbacillen. Wie nämlich bereits Koch fand, entfärben sich die gefärbten Tuberkelbacillen im Präparate sehr leicht und gern wieder. Manchmal bereits nach mehreren Stunden sieht man die Bacillen verblassen und dann unsichtbar werden. Unna[2]) hat den Nachweis geführt, dass die im Präparat zurückgebliebenen Spuren der zu der Entfärbung der Kerne etc. benutzten Säure es sind, welche diese Entfärbung bewirken; und er begründete auf diese

---

[1]) Charité-Annalen. 1886.

[2]) Monatshefte f. pract. Dermatol. Ergänzungsheft 1885.

Erkenntniss eine neue Methode der Darstellung resp. Conservirung von gefärbten Präparaten, die sich zunächst auf Leprabacillen und auf Schnittpräparate bezog. Die Leprabacillen theilen nämlich die Eigenschaft, sich in den Präparaten gern zu entfärben, mit den Tuberkelbacillen. Unna bringt bei seiner „Antrocknungsmethode" (cf. oben p. 88) die Schnitte nach der Entfärbung in Wasser, wäscht sie dort gründlichst aus, überträgt sie nun nicht in Alcohol, sondern gleich aus dem Wasser auf den Objectträger und trocknet sie dort an. Darauf erhitzt er den Objectträger von unten, bis der Schnitt anfängt leicht glänzend zu werden. Bei diesem ziemlich starken Erhitzen werden die letzten Spuren Säure aus dem Schnitte entfernt. Der Schnitt wird dann nach dem Abkühlen mit einem Tropfen Xylol-Balsam beträufelt und mit dem Deckglas bedeckt. Die Bacillenfärbung ist in solchen Präparaten dauernd haltbar.

Dasselbe Princip der Erhitzung nach der Entfärbung hat sich mir[1]) auch bei Tuberkelbacillenschnitten und weiter auch bei Tuberkelbacillendeckglaspräparaten sehr bewährt. Die Bacillenfärbung bleibt unverändert haltbar.

Hat man in der Praxis eine bestimmte Sputumprobe auf Tuberkelbacillen zu untersuchen, so fertigt man sich von verdächtigen Theilen des Sputums mehrere Deckglastrockenpräparate durch Ausstreichen des Materiales in möglichst dünner Schicht (wozu man ein Scalpell oder einen starken Platindraht benutzen kann) an und behandelt dieselben nach einer der oben angegebenen Färbungsmethoden. Man wird die Bacillen zunächst in den eitrigen Theilen des Sputums zu suchen haben und namentlich auf kleine käsige Bröckchen zu fahnden haben, welche oft direct von der Wand einer Caverne stammen, und in denen man die Bacillen am zahlreichsten findet.

Wenn es sich dann um die Untersuchung des fertigen Präparates unter dem Mikroskope handelt, so muss man nach rothgefärbten Bacillen suchen.[2]) Hat man wirklich fuchsingefärbte

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 22. p. 474.

[2]) Damit dies geschehen kann, d. h. damit man im Stande ist die Farbe sicher zu erkennen, ist es vor Allem nothwendig, die Beleuchtung so zu wählen, dass jede Spur eines „Structurbildes", jede Spur von Diffractionserscheinungen an den Grenzen der Objecte, vermieden wird. Zu dem Zwecke ist also (cf. p. 54, 68) mit völlig offenem Condenser zu arbeiten und der letztere in eine solche Entfernung von dem Objecte zu bringen, dass die Beleuchtung maximal ist. Namentlich für Untersuchungen bei Lampenlicht beherzige man diese Mahnung, wenn man nicht gelegentlich in die gröbsten Irrthümer verfallen will. Erscheint die Lampenlichtbeleuchtung zu blendend, so kann die Helligkeit durch blaue Gläser (cf. p. 69, Anm.) gemindert werden.

Stäbchen vor sich, so können diese nichts anderes sein als Tuberkelbacillen. Man muss sich aber sicher davon überzeugen, dass man es auch wirklich mit Stäbchen zu thun hat. Nicht alles, was in einem solchen Präparate roth erscheint, bedeutet Tuberkelbacillen. Roth erscheint in einem solchen Präparate ganz im Allgemeinen alles, was sich der Entfärbung durch den Säure-Alcohol widersetzt hat. Zunächst können solche Stellen des Präparates, in denen das ausgestrichene Material dickere Schichten bildet, einen röthlichen bis rothen Farbenton behalten haben. Diese grösseren, meist rundlichen Stellen wird Niemand mit Bacillen verwechseln. Auch Schimmelpilzsporen, ferner Bacillensporen unter Umständen, treten in solchem Präparate roth gefärbt auf. Ihre runde Gestalt sichert sie ebenfalls vor der Verwechselung mit Tuberkelbacillen. Dann kommt es z. B. auch vor, dass in einem Haufen von Mikrococcen (die in jedem Sputum anzutreffen sind) einzelne Zellen, einzelne Coccen, eine röthliche Farbe zeigen, während die anderen, gleichgestalteten Zellen rein blau erscheinen. Die röthlichen Zellen haben ohne Zweifel dem Eindringen des Entfärbungsmittels einen grösseren Widerstand entgegengesetzt als die blauen; sie sind als resistentere Zellen aufzufassen. Ihre Gestalt sichert sie vor der Verwechselung mit Bacillen. Endlich zeichnen sich auch Fragmente von Haaren, Fragmente von verhornten Epidermiszellen, die zufällig in das Präparat gelangt sind, dadurch aus, dass sie die einmal angenommene Rothfärbung dem Entfärbungsmittel gegenüber energisch festhalten. Alle diese Dinge wird aber Niemand mit Bacillen verwechseln. Zu Verwechselungen Anlass könnten dagegen kleine Fettcrystallnadeln (Cholesterin) geben, welche in solchen Präparaten ebenfalls roth erscheinen; aber doch nur dem ganz Ungeübten könnte diese Verwechselung begegnen. Die Tuberkelbacillen haben eine so typische Form (cf. p. 217), dass diese zusammen mit dem typischen Verhalten bei der Färbung eine Verwechselung dieser Gebilde mit etwas anderem unmöglich macht. Taf. VII, Fig. 41, zeigt ein Sputumpräparat mit Tuberkelbacillen bei 1000facher Vergrösserung.

Um ganz vereinzelte Tuberkelbacillen im Sputum aufzufinden, hat Biedert[1]) empfohlen, das Sputum zunächst mit Wasser zu verdünnen, dann mit Natronlauge zu versetzen und zu kochen, bis eine ganz gleichmässige, homogene Flüssigkeit entstanden ist. Diese lässt man dann absetzen. Die specifisch relativ schweren Bakterien sammeln sich im Bodensatze an, und hier sind dann etwa vorhandene

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 42—43.

Tuberkelbacillen ebenfalls zu finden. (Biedert'sche Sedimentirungsmethode.)

Gabritschewsky[1]) hat eine von Ad. Schmidt[2]) angegebene Methode — welche behufs der mikroskopischen Untersuchung das Sputum in Alcohol härtet und dann in Schnitte zerlegt, die weiterhin gefärbt etc. werden — zur Untersuchung des Sputums auf Tuberkelbacillen (und auf Riesenzellen) empfohlen.

Wie im Sputum, so lassen sich natürlich auch im Darminhalt (bei phthisischen Diarrhöen) die Tuberkelbacillen durch die Färbung nachweisen. Die erste derartige Beobachtung machte Lichtheim.[3]) Auch im Urin lassen sich vorhandene Tuberkelbacillen (im Sediment)[4]) durch die Färbung auffinden.

Will man Tuberkelbacillen in Schnitten darstellen, so verfährt man am besten nach der oben (p. 222) angegebenen Ehrlich-Koch'schen Methode. Man bekommt auf diese Weise Präparate, in denen die Tuberkelbacillen mit ausserordentlicher Präcision und Deutlichkeit erscheinen. Leider sind die Präparate, oder vielmehr ist die Bacillenfärbung, wenig haltbar. Um haltbare Schnittpräparate herzustellen, kenne ich nur einen Weg: dieselben nach der Unna'schen Antrocknungsmethode zu behandeln. Die Schnitte werden zunächst in 24 Stunden alter (cf. oben p. 94), eben filtrirter Ehrlich'scher Anilinwassergentianaviolett- (oder -Methylviolett-) Lösung bei Zimmertemperatur 12 bis 24 Stunden (oder im Brütschrank bei c. 35° C. $1^1/_2$ bis 2 Stunden) gefärbt, dann etwa 10 Minuten in Wasser zum vorläufigen Auswaschen überflüssigen Farbstoffes gelegt, dann in 20 proc. Salpetersäurewasser auf etwa 2 Minuten gebracht. Sie werden hier schwarzgrün. Sie kommen darauf in absoluten Alcohol, in welchem sie bis zu blassblauer Färbung (etwa eine halbe Minute lang) hin und her bewegt werden. Darauf gelangen sie in 3 bis 4 Mal erneuertes Wasser, wo sie ziemlich farblos werden. Wenn sie hier gut (etwa 10 Minuten lang) ausgewaschen sind, werden sie mit dem Spatel auf den Objectträger übertragen. Man geht hierbei am besten so vor, dass man zunächst eine Quantität Wasser mit dem Spatel auf die Mitte des Objectträgers bringt und in dieses Wasser hinein den Schnitt nachher überträgt. Dann neigt man langsam den Objectträger, lässt das Wasser abfliessen, ohne dass der Schnitt mit herunter geht, und tupft dann das noch auf und neben dem Schnitt stehende Wasser

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43.
[2]) Centralbl. f. klin. Med. 1891. No. 25.
[3]) Fortschr. d. Med. 1883. No. 1.
[4]) cf. Kirstein (Deutsche med. Wochenschr. 1886. No. 15).

mit Fliesspapier ab. Nun erhitzt man, wie oben (p. 225) angegeben, den Objectträger, bis der Schnitt leicht glänzend wird, lässt abkühlen und kittet mit Xylol-Balsam ein Deckglas auf. Nach einem derartig haltbar hergestellten Präparat ist das Photogramm 42 auf Taf. VII (Meningealtuberculose) aufgenommen.

Auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färben sich die Tuberkelbacillen. Die Präparate müssen selbstverständlich auch hierbei erheblich intensiver als andere Bakterienobjecte mit der Farblösung behandelt werden.

Mit Bismarckbraun ist eine Färbung der Tuberkelbacillen bisher nicht gelungen.

Eine Methode, Tuberkel- (und besonders Lepra-) Bacillen im Gewebe mit Jod braun zu färben, hat Unna[1]) angegeben.

Die früher (cf. p. 221) als „Sporen“ der Tuberkelbacillen gedeuteten Dinge zu färben ist bisher auf keine Weise gelungen.

Für die Infection mit dem Tuberkelbacillus (Bacillus der Säugethiertuberculose) sehr empfänglich sind von Versuchsthieren vor Allem Meerschweinchen, ferner Kaninchen, Katzen, Feldmäuse. Viel weniger empfänglich sind weisse Mäuse, Hunde[2]), Ratten, Hühner, Kanarienvögel. Durch subcutane Einführung der Tuberkelbacillen, durch Einführung in die vordere Augenkammer (cf. oben p. 173), in die Bauchhöhle, in Venen, ferner durch Inhalation erreichte Koch bei seinen grundlegenden Arbeiten die tuberculöse Infection. Ganz besonders prompt reagiren Meerschweinchen auf die Einverleibung tuberculösen Materiales. Bringt man einem solchen Thiere tuberkelbacillenhaltiges Material in eine am Bauch angelegte Unterhauttasche, so stirbt es in 4 bis 8 bis 11 Wochen an Tuberculose. die sich besonders im Netze, in Milz und Leber, weniger in der Lunge localisirt zeigt.

Beim Menschen ist bekanntlich meist die Lunge Sitz der primären Erkrankung. Die Tuberkelbacillen gelangen durch Inhalation in die Luftwege. Die Eingangspforte kann aber auch von der Darmschleimhaut oder anderen Schleimhäuten oder von der äusseren Haut gebildet werden. Ebenso kann der menschliche Foetus im Mutterleibe vom mütterlichen Organismus her durch die Placenta hindurch mit Tuberkelbacillen inficirt werden; eine ganze Reihe von Fällen un-

---

1) Monatsh. f. pract. Dermatol. Bd. 12. 1891. p. 477.

2) Nach Maffucci (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 452) erkranken Hunde nach intravenöser Einverleibung des Tuberkelbacillus an allgemeiner Miliartuberculose.

zweifelhafter congenitaler Tuberculose sind bereits beim Menschen (und ebenso auch bei Thieren) beobachtet.[1])

Die durch Inhalation in die menschlichen Luftwege aufgenommenen Tuberkelbacillen werden häufig in den Bronchialdrüsen zurückgehalten, ohne eine weitere Infection des Körpers hervorzurufen. Sie scheinen sich hier ausserordentlich lange Zeit in lebensfähigem und infectionstüchtigem Zustande halten zu können. Viele ganz gesunde Menschen tragen in ihren Bronchialdrüsen Tuberkelbacillen mit sich herum.[2])

Dass die ulceröse Lungenphthise eine Complication verschiedener Processe, das Product einer gemischten Infection, darstellt, ist bereits oben (p. 216, Anm. 1) betont worden.

Die ausserordentliche Häufigkeit der Lungenschwindsucht und die erheblichen Quantitäten tuberkelbacillenhaltigen Sputums, welche täglich von den Phthisikern ausgeworfen werden, hatten den Gedanken nahegelegt, dass tuberculöse Keime überall, wo Menschen wohnen, anzutreffen sind. dass wir sie womöglich mit jedem Athemzuge in uns aufnehmen, und dass es nur dem Mangel an „Disposition" zuzuschreiben ist, wenn die Mehrzahl der Menschen nicht tuberculös wird. Diese Auffassung musste nothwendig im Gefolge haben, dass Jeder, dem sein Leben lieb ist, den Phthisiker zu fliehen hatte. Von Seiten der Aerzte aber konnte nichts weiter geschehen, als dass man sich stiller Resignation ergab.

Wir verdanken Cornet[3]) eine totale Umgestaltung dieser Anschauungen. Cornet hat (im Koch'schen Institute) mehrere Jahre daran gearbeitet, die Orte, wo der Tuberkelbacillus ausserhalb des Körpers zu finden ist, zu ermitteln. Er untersuchte in allen nur erdenklichen Localitäten, in Wohnungen, Krankenhäusern, in Gefängnissen, auf der Strasse etc. Staub, der sich an den Wänden, auf Möbeln, auf Gesimsen, auf dem Fussboden etc. angesammelt hatte, auf seinen Gehalt an Tuberculosekeimen. Als Reagenz diente das Meerschweinchen, dem der Staub in eine subcutane Tasche am Bauche

---

[1]) Bezüglich der experimentellen Erzeugung congenitaler Tuberculose vergl. die Arbeit von Gärtner (Zeitschr. f.. Hyg. Bd. 13. 1893).

[2]) Pizzini (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 21. 1892) hat bei der Untersuchung der Leichen von 30 Personen, die an acuten Krankheiten oder Unglücksfällen verstorben waren und keine Spur von Tuberculose zeigten, in 42 % der Fälle (durch Meerschweincheninfection) Tuberkelbacillen in den Lymphdrüsen nachgewiesen; am meisten waren die Bronchialdrüsen befallen. — Aehnliche Befunde (bei Kindern) hat Spengler (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893) beschrieben: Mikroskopischer Nachweis der Tuberkelbacillen in Schnitten der Bronchialdrüsen, während die Lungen sowohl wie die Cervical- und Mesenterialdrüsen frei waren.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1888.

eingebracht wurde. Es geht aus den Cornet'schen Untersuchungen mit grösster Sicherheit hervor, dass von einer Ubiquität des Tuberkelbacillus keine Rede ist. Derselbe findet sich nur dort im Staub resp. in der Luft, wo phthisisches Sputum Gelegenheit hat anzutrocknen und dann zu verstäuben. Die Gelegenheit findet sich aber fast ausschliesslich dann, wenn das Sputum auf den Boden oder in das Taschentuch gespuckt wird. Cornet sieht daher mit Recht in der allgemeinen Einführung und Benutzung des Spucknapfes, welcher ein Fortschaffen und Unschädlichmachen des Sputums, bevor es vertrocknen kann, ermöglicht, das mächtigste Mittel, die Tuberculose prophylactisch einzuschränken.

In einer besonderen statistischen Arbeit[1]) hat übrigens Cornet den Nachweis geliefert, dass der dauernde Verkehr mit unreinlichen Phthisikern selbst die kräftigsten Menschen aus den gesündesten Familien, bei denen von einer besonderen Anlage zur Schwindsucht sicher keine Rede ist, der Tuberculose überantwortet.

Am 4. August 1890 machte Koch[2]) die ersten Mittheilungen über Heilungsvorgänge, die er bei tuberculösen Thieren beobachtet hatte: Koch hatte Substanzen gefunden, welche nicht allein im Reagenzglase (wie so viele andere chemische Substanzen), sondern auch im Thierkörper das Wachsthum der Tuberkelbacillen aufzuhalten im Stande sind. Koch theilte mit, „dass Meerschweinchen, wenn man sie der Wirkung einer solchen Substanz aussetzt, auf eine Impfung mit tuberculösem Virus nicht mehr reagiren, und dass bei Meerschweinchen, welche schon in hohem Grade an allgemeiner Tuberculose erkrankt sind, der Krankheitsprocess vollkommen zum Stillstand gebracht werden kann, ohne dass der Körper von dem Mittel etwa anderweitig nachtheilig beeinflusst wird.“ [3])

In einer weiteren Mittheilung[4]) (vom 13. November 1890) berichtete Koch über Versuche, die mit dem Mittel am tuberculösen Menschen angestellt waren, und die — soweit sich bei der geringen Zahl der Versuche und der Kürze der Beobachtungszeit urtheilen liess — gezeigt hatten, dass auch beim Menschen der tuberculöse

---

[1]) Die Sterblichkeitsverhältnisse in den Krankenpflegeorden. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

[2]) 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen. Bd. 1. p. 46.

[3]) Eine complete dauernde Heilung der Tuberculose tritt bei derartig behandelten Meerschweinchen, wie wir weiter unter (p. 232) sehen werden, nicht ein. Die Thiere gehen, wenn auch später als nicht behandelte, an Tuberculose zu Grunde.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a. Extra-Ausgabe.

Process durch die Behandlung mit dem Mittel zum Stillstand gebracht werden kann. Koch betonte ferner die specifische Wirkung des Mittels auf tuberculöse Processe und damit seine Bedeutung für die Diagnosticirung zweifelhafter Fälle.[1])

In einer dritten Mittheilung[2]) (vom 15. Januar 1891) gab Koch die Principien der Herstellung des Mittels und den Weg an, auf welchem er zu seiner Entdeckung gelangt war[3]): Koch hatte beobachtet, dass sich gesunde Meerschweinchen nach der Impfung mit einer Reincultur von Tuberkelbacillen ganz anders verhalten als bereits tuberculöse Meerschweinchen, an welchen dieselbe Impfung vorgenommen wird. Bei den gesunden Thieren verklebt nach der Tuberkelbacillenimpfung in der Regel die Impfwunde und scheint in den ersten Tagen zu verheilen; erst im Laufe von 10—14 Tagen entsteht ein hartes Knötchen, welches bald aufbricht und bis zum Tode des Thieres eine ulcerirende Stelle bildet. Bei bereits tuberculösen Thieren verklebt die kleine Impfwunde auch anfangs; aber es bildet sich kein Knötchen, sondern schon am nächsten oder zweiten Tage wird die Impfstelle und dann auch die nächste Umgebung derselben hart und dunkler gefärbt; und es stellt sich dann in den nächsten Tagen immer deutlicher heraus, dass die so veränderte Haut nekrotisch ist; sie wird schliesslich abgestossen, und es bleibt dann eine flache Ulceration zurück, welche gewöhnlich schnell und dauernd heilt, ohne dass die benachbarten Lymphdrüsen inficirt werden. So wie sich aber die gesunden und die bereits tuberculösen Thiere nach der Impfung mit lebenden Bacillen verschieden von einander verhalten, so verhalten sie sich auch nach der Injection abgetödteter Tuberkelbacillenreinculturen in verschiedener Weise. Gesunden Meerschweinchen können wässerige Aufschwemmungen von durch Hitze oder auf andere Weise abgetödteten Tuberkelbacillenculturen in grosser Menge unter die Haut gespritzt werden, ohne dass etwas anderes als eine locale Eiterung[4]) entsteht. Tuberculöse Meerschweinchen dagegen werden schon durch Injection von sehr geringen Mengen solcher aufge-

[1]) Die diagnostische Bedeutung des Koch'schen Mittels hat sich in der Praxis durchaus bewährt. Speciell in der Thiermedicin leistet dasselbe — zur Erkennung der Tuberculose intra vitam beim Rinde — unschätzbare Dienste. (Vergl. hierüber das zusammenfassende Referat von Eber, Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 9/10.)

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.

[3]) In der folgenden Schilderung halte ich mich meist wörtlich an die Koch'schen Veröffentlichungen.

[4]) Die Eiterung wird veranlasst durch eine in den Bacillen selbst vorhandene chemische Substanz, welche sich künstlich nur schwierig aus diesen Zellen extrahiren lässt.

schwemmten Culturen getödtet (je nach der Dosis in 6 bis 48 Stunden). Eine Dosis, welche eben nicht mehr ausreicht das Thier zu tödten, kann eine ausgedehnte Nekrose im Bereiche der Injectionsstelle bewirken. Wird die Aufschwemmung noch weiter verdünnt, dann bleiben die Thiere nach der Injection am Leben; werden die Injectionen mit ein- bis zweitägigen Pausen fortgesetzt, so zeigen die Thiere bald eine merkliche Besserung ihres Zustandes. Die (primäre) ulcerirende Impfwunde verkleinert sich und vernarbt schliesslich, was ohne eine derartige Behandlung niemals der Fall ist; die geschwollenen Lymphdrüsen verkleinern sich; der Ernährungszustand wird besser, und der Krankheitsprocess kommt, wenn er nicht bereits zu weit vorgeschritten ist und das Thier an Entkräftung zu Grunde geht, zum Stillstand. — „Damit war die Grundlage für ein Heilverfahren gegen Tuberculose gegeben."

Koch fand dann weiter, dass ein mit 50procentiger Glycerinlösung hergestellter Auszug aus Tuberkelbacillenculturen in derselben Weise zu heilenden Injectionen gegen Tuberculose benutzt werden kann wie die Aufschwemmung abgetödteter Culturen. Mit diesem Glycerinextract[1]), dem später die Bezeichnung „Tuberculinum Kochii"[2]) beigelegt wurde, wird das Koch'sche Heilverfahren ausgeübt. Der in das Glycerinextract übergehende wirksame Körper ist in absolutem Alcohol unlöslich; er ist nach Koch mit Wahrscheinlichkeit ein Derivat von Eiweisskörpern und steht diesen nahe, ist aber kein „Toxalbumin" (cf. p. 41), da er hohe Temperaturen (Siedetemperaturen) erträgt und im Dialysator leicht und schnell durch die Membran geht.

Spätere Arbeiten, welche aus dem Koch'schen Institute hervorgegangen sind, haben die genauere Angabe gebracht, dass die in Vorstehendem geschilderte Heilung der Tuberculose des Meerschweinchens nicht als eine definitive Heilung des gesammten tuberculösen Processes, der sich in dem Meerschweinchenkörper (nach der Impfung des Thieres am Bauche) abspielt, aufgefasst werden darf. Pfuhl[3]) theilt mit, dass tuberculöse Meerschweinchen durch die Behandlung mit dem Tuberculin bis zu 19 Wochen nach der Infection

---

[1]) Genauere Angaben über die Herstellung hat Koch in einer vierten Mittheilung (vom 22. October 1891; Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43) gemacht. Daselbst wird auch über Versuche berichtet, das wirksame Princip aus dem Mittel zu isoliren.

[2]) Das Wort „Tuberculin" wurde zuerst von Pohl-Pincus (1884) gebraucht; cf. Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 7. p. 108.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1891.

am Leben erhalten werden können, während nicht behandelte Thiere im Durchschnitt 63 Tage nach der Infection zu Grunde gehen. Während aber die unbehandelten Thiere an einer hauptsächlich in den Unterleibsorganen (Leber, Milz) localisirten (cf. p. 228) Tuberculose sterben und eine nur wenig vorgeschrittene Lungentuberculose darbieten, so zeigt sich bei der Obduction der behandelten Thiere die Unterleibstuberculose und die Tuberculose der Impfstelle günstig beeinflusst (in Rückgang begriffen), die Lungentuberculose aber so erheblich vorgeschritten, dass sie für den Tod der Thiere wohl in erster Linie verantwortlich gemacht werden muss. Die Lungentuberculose des Meerschweinchens scheint durch das Koch'sche Mittel gar nicht beeinflusst zu werden.[1]) Ebenso wie Pfuhl constatirte auch Kitasato[2]) nur eine Verlängerung der Lebensdauer der tuberculösen Meerschweinchen durch die Tuberculinbehandlung.

In seiner zweiten Mittheilung[3]) hatte Koch bereits betont, dass das neue Mittel nicht etwa die Tuberkelbacillen tödtet, sondern dass es lediglich das tuberculöse Gewebe, und zwar das lebende tuberculöse Gewebe, zum Absterben bringt. Ueber die Art und Weise, wie wir uns die specifische Wirkung des Mittels auf das tuberculöse Gewebe vorzustellen haben, hat Koch[4]) folgende Hypothese aufgestellt: Die Tuberkelbacillen produciren bei ihrem Wachsthum in den lebenden Geweben ebenso wie in den künstlichen Culturen gewisse Stoffe, welche die lebenden Elemente ihrer Umgebung, die Zellen, in verschiedener Weise, und zwar nachtheilig, beeinflussen. Darunter befindet sich ein Stoff, welcher in einer gewissen Concentration lebendes Protoplasma tödtet und so verändert, dass es in den von Weigert als Coagulationsnekrose (cf. oben p. 217) bezeichneten Zustand übergeführt wird. In dem nekrotisch gewordenen Gewebe findet der Bacillus dann so ungünstige Ernährungsbedingungen, dass er nicht weiter zu wachsen vermag, unter Umständen selbst schliesslich abstirbt. Auf grosse Entfernung vermag der einzelne Bacillus Nekrose nicht zu bewirken; denn sobald die Nekrose ein gewisse Ausdehnung erreicht hat, nimmt das Wachsthum des Bacillus und damit die Production der nekrotisirenden Substanz ab, und es tritt so eine Art von gegenseitiger Compensation ein. Würde man nun künstlich in der Umgebung des Bacillus den Gehalt des Gewebes an nekrotisirender Substanz steigern,

---

[1]) Vergl. hierüber auch die Koch'sche Veröffentlichung vom 22. Oct. 1891 (Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 43).

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 46a.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 3.

dann würde sich die Nekrose auf eine grössere Entfernung ausdehnen, und es würden sich damit die Ernährungsverhältnisse für den Bacillus viel ungünstiger gestalten, als dies gewöhnlich der Fall ist. Theils würden alsdann die in grösserem Umfange nekrotisch gewordenen Gewebe zerfallen, sich ablösen und, wo dies möglich ist, die eingeschlossenen Bacillen mit fortreissen und nach aussen befördern; theils würden die Bacillen so weit in ihrer Vegetation gestört, dass es viel eher zu einem Absterben derselben kommt, als dies unter gewöhnlichen Verhältnissen geschieht. Gerade in dem Hervorrufen solcher Veränderungen besteht wahrscheinlich die Wirkung des Mittels.

Das Glycerinextract enthält von der wirksamen Substanz nach der Schätzung Koch's Bruchtheile eines Procentes. Von dem Glycerinextract kann einem gesunden Meerschweinchen eine Dosis bis zu 2 ccm subcutan beigebracht werden, ohne dass es merklich dadurch beeinflusst wird. Der gesunde erwachsene Mensch wird bereits durch eine Dosis von 0,25 ccm intensiv beeinflusst. Auf Körpergewicht berechnet ist also $^{1}/_{1500}$ von der Menge, welche beim Meerschweinchen noch keine merkliche Wirkung hervorbringt, für den Menschen sehr stark wirkend. Koch schildert die Wirkung einer Dosis von 0,25 ccm, die er sich selbst am Oberarm subcutan injicirte, folgendermassen: „Drei bis vier Stunden nach der Injection Ziehen in den Gliedern, Mattigkeit, Neigung zum Husten, Athembeschwerden, welche sich schnell steigerten; in der fünften Stunde trat ein ungewöhnlich heftiger Schüttelfrost ein, welcher fast eine Stunde andauerte; zugleich Uebelkeit, Erbrechen, Ansteigen der Körpertemperatur bis zu 39,6^{0}; nach etwa 12 Stunden liessen sämmtliche Beschwerden nach, die Temperatur sank und erreichte bis zum nächsten Tage wieder die normale Höhe; Schwere in den Gliedern und Mattigkeit hielten noch einige Tage an, ebenso lange Zeit blieb die Injectionsstelle ein wenig schmerzhaft und geröthet."

Die untere Grenze der Wirkung des Glycerinextracts liegt für den gesunden Menschen ungefähr bei 0,01 ccm. Die meisten Personen reagirten in den Koch'schen Versuchen auf diese Dosis nur noch mit leichten Gliederschmerzen und bald vorübergehender Mattigkeit. Bei einigen trat ausserdem noch eine leichte Temperatursteigerung ein bis zu 38^{0} oder wenig darüber hinaus. Ganz anders reagiren Tuberculöse (Erwachsene), wenn ihnen eine derartige Dosis[1]) injicirt wird; bei diesen tritt sowohl eine starke allgemeine wie auch eine örtliche

[1]) Bei Phthisikern muss man mit viel geringeren Dosen arbeiten; hier sind die Reactionen am allerheftigsten.

Reaction ein. Die allgemeine Reaction besteht in einem, in der Regel 4 bis 5 Stunden nach der Injection eintretenden, mit Schüttelfrost beginnenden, 12 bis 15 Stunden dauernden Fieberanfall, welcher mit Gliederschmerzen, Hustenreiz, grosser Mattigkeit, öfters auch mit Uebelkeit und Erbrechen verbunden ist. Die örtliche Reaction kann am besten an solchen Kranken beobachtet werden, deren tuberculöse Affection zu Tage liegt, also z. B. bei Lupuskranken. Einige Stunden nach der (an einer entfernten Körperstelle gemachten) Injection fangen die lupösen Stellen an zu schwellen und sich zu röthen. Die Schwellung und Röthung, welche gewöhnlich bereits vor dem Beginne des Frostanfalles eintritt, wird während des Fiebers stärker und kann zur Nekrose des lupösen Gewebes führen, welches dann später abgestossen wird. In ähnlicher Weise tritt eine örtliche Reaction bei allen im Körper vorhandenen Tuberculoseherden, aber nur bei diesen, auf.

Was die therapeutische Anwendung des Koch'schen Tuberculins bei dem tuberculösen Menschen angeht, so lassen sich die seit dem Bekanntwerden des Mittels gesammelten Erfahrungen im Wesentlichen dahin zusammenfassen, dass erstens (wie das Koch übrigens gleich Anfangs betont hat) nicht jeder Fall von Tuberculose sich für die Tuberculinbehandlung eignet; es sind einer günstigen Beeinflussung durch Tuberculin nur Fälle von beginnender, und im Speciellen nur von uncomplicirter Tuberculose zugängig.[1]) Fälle von complicirter Tuberculose (cf. p. 216, Anm. 1; p. 229) eignen sich nicht. Zweitens sind stürmische Reactionen nach den einzelnen Injectionen weder erforderlich noch wünschenswerth. Sie sind durchaus zu vermeiden.[2]) Wesentlich ist, die specifische Reizbarkeit des tuberculösen Gewebes möglichst lange zu erhalten und sie nicht, wie das bei grossen Dosen und schnellen Steigerungen der Fall ist, vorzeitig zu vernichten.[3])

---

[1]) Cf. Petruschky, Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 14.

[2]) Ueber die ernsten Gefahren, welche stürmische Reactionen mit sich führen können, vergl. die von Virchow in der Berliner medicinischen Gesellschaft am 7. Januar 1891 und in den sich anschliessenden Sitzungen gemachten Mittheilungen. Es ist durch dieselben zur hohen Wahrscheinlichkeit erhoben worden, dass bei dem Auftreten stürmischer Reactionen eine Verbreitung der Tuberkelbacillen von dem beeinflussten tuberculösen Herde aus in den Körper hinein und im Anschlusse daran die Entwickelung miliarer Tuberculose erfolgen kann.

[3]) Cf. Ehrlich, 7. internat. Congr. f. Hyg. u. Demogr. London 1891. (Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. p. 811).

6. Der Bacillus der Hühnertuberculose (Geflügeltuberculose).

Die spontan bei dem Geflügel (Hühner, Enten, Fasanen etc.) auftretende Tuberculose zeigt sich bedingt durch einen Bacillus, welchen Koch[1]) bei seinen Tuberculosestudien zunächst mit dem bei Säugethieren gefundenen Tuberkelbacillus für identisch hielt. Spätere Untersuchungen jedoch, namentlich von Rivolta[2]) und von Maffucci[3]), haben den sicheren Nachweis geliefert, dass ganz bestimmte constante Unterschiede zwischen den Eigenschaften des Bacillus der Hühnertuberculose (Geflügeltuberculose) und denen des Bacillus der Säugethiertuberculose, des Tuberkelbacillus per excellence, bestehen; und wir sind heute berechtigt, hier zwei von einander verschiedene Bakterienarten, die allerdings nahe mit einander verwandt sind, anzunehmen (cf. oben p. 216).

Die Bacillen der Hühnertuberculose sind morphologisch denen der Säugethiertuberculose sehr ähnlich, erscheinen aber gewöhnlich etwas länger und dünner als die letzteren.

Sie lassen sich künstlich züchten; und zwar wachsen sie auf Blutserum, auf Agar, auf Bouillon. Die genannten Nährböden sind sowohl ohne Zusatz von Glycerin oder Traubenzucker als auch mit diesen Zusätzen zu gebrauchen. Das Wachsthum ist im Allgemeinen ein etwas schnelleres als das der Bacillen der Säugethiertuberculose. Auf Kartoffeln gedeihen die Hühnertuberculosebacillen nicht.

Die Temperaturbedingungen für die Züchtung sind von denen der Säugethiertuberculosebacillen etwas verschieden. Während nämlich (cf. oben p. 218) die letzteren bei 42° C. nicht mehr gedeihen, so wachsen die Bacillen der Hühnertuberculose bei 42° bis 43° C. noch vortrefflich, und zwar ebenso gut wie bei 37° C. Im Allgemeinen findet Wachsthum statt zwischen 35° und 45° C. Die Züchtung bei 43° C. hebt die Virulenz durchaus nicht auf. Die genannten Unterschiede zwischen den Temperaturansprüchen der Bacillen der Hühner- und der Bacillen der Säugethiertuberculose sind bei der verschiedenen Höhe der normalen Körpertemperatur der Vögel[4]) und der Säugethiere ohne Weiteres verständlich.

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 41.
[2]) cf. Baumgarten's Bakt. Jahresber. 1889. p. 313.
[3]) La Riforma medica. 1890. No. 119—120. — Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892.
[4]) Die normale Rectaltemperatur der Vögel beträgt 41.5° bis 42.5° C.

Die künstlichen Culturen der Hühnertuberculosebacillen unterscheiden sich in ihrem Aussehen in ganz bestimmter, characteristischer Weise von denen der Bacillen der Säugethiertuberculose. Auf festem Nährboden (erstarrtes Blutserum etc.) bemerkt man makroskopisch zuerst nach 6 bis 8 bis 10 Tagen Wachsthum. Es bilden sich kleine weissliche Colonien, wie Flecken oder Punkte von weissem Wachs aussehend. Die Colonien nehmen an Dicke und Flächenausdehnung mehr und mehr zu und fliessen nach etwa einem Monat mit einander zusammen, einen weissen speckigen Ueberzug auf dem Nährboden bildend. Ueberträgt man Material von dieser primären Cultur auf neuen Nährboden, so bilden sich nicht mehr kleine isolirte Colonien, sondern es entsteht gleich a priori ein weisser Streifen, der die Tendenz zeigt sich über den Nährboden auszubreiten', und der dabei auch an Dickenausdehnung zunimmt. Bei der Entnahme von Theilen der Cultur mit dem Platindraht macht die Cultur stets einen weichen, feuchten Eindruck gegenüber der Cultur der Säugethiertuberculose, welche stets resistent und trocken erscheint. Mit zunehmendem Alter nimmt die Cultur der Hühnertuberculose einen gelblichen Farbenton an und wird schleimig und faserig.

Auf flüssigen Nährböden (Bouillon, flüssiges Blutserum) gezüchtet erscheint die Cultur als ein sehr feines weissliches Pulver, welches sich an den Wänden des Culturröhrchens festsetzt und auch Grund und Oberfläche des Nährbodens (letztere als gleichmässig weisses Häutchen) überzieht. Das oberflächliche weisse Häutchen ist leichter zerreiblich als der entsprechende Ueberzug, welchen die Bacillen der Säugethiertuberculose auf den flüssigen Nährböden bilden.

Die Hühnertuberculosebacillen scheinen eine etwas grössere Resistenz gegen die Erwärmung auf höhere Temperaturgrade zu besitzen, als sie den Bacillen der Säugethiertuberculose zukommt. Durch 2stündige Erhitzung auf 65° C. werden sie (im Gegensatz zu den letzteren) nicht vernichtet; so beeinflusste Culturen zeigen aber hinterher ein verlangsamtes Wachsthum. Durch 15 Minuten lange Erhitzung auf 70° C. werden die Bacillen der Hühnertuberculose getödtet.

Die künstlichen Culturen scheinen sich sehr lange Zeit lebensfähig und unverändert virulent erhalten zu können. Maffucci erhielt mit Culturen, die seit 2 Jahren nicht umgezüchtet waren, in beiden Richtungen positive Resultate. Auch vertragen die Culturen monatelanges Austrocknen ohne Schädigung. In den genannten Beziehungen verhalten sich also die Bacillen der Hühnertuberculose dauerhafter als die der Säugethiertuberculose.

Sporenbildung hat man bei dem Bacillus der Hühnertuberculose bisher ebenso wenig zu statuiren vermocht wie bei dem Bacillus der Säugethiertuberculose (cf. p. 221).

Für die Infection mit dem Hühnertuberculosebacillus zeigen sich ganz im Allgemeinen Vögel[1]) empfänglich. Die spontane Geflügeltuberculose, welche mitunter jahrelang unter dem Geflügel eines Hofes herrscht, scheint sich fast ausschliesslich durch congenitale Uebertragung fortzupflanzen (Baumgarten[2])). Die Hauptlocalisation findet sich stets in der Leber; nie tritt die spontane Geflügeltuberculose primär in der Lunge oder in der Darmschleimhaut auf; die tuberculösen Hühner produciren weder tuberculöses Sputum noch tuberculösen Koth. Characteristisch für die Geflügeltuberculose ist (im Gegensatz zur Säugethiertuberculose) der sehr langsame, chronische Verlauf und die geringe Veränderlichkeit, welche die tuberculösen Bildungen in späteren Stadien zeigen. Die tuberculösen Bildungen sind ganz enorm reich an Bacillen; auch hierin unterscheidet sich die Geflügeltuberculose von der Säugethiertuberculose. Riesenzellen, welche in dem Säugethiertuberkel fast stets gefunden werden, sind bei der Geflügeltuberculose erheblich spärlicher, fehlen aber nicht vollständig.[3]) Die centrale Zellnekrose des Tuberkels erfolgt bei der Hühnertuberculose nicht (wie bei der Säugethiertuberculose) unter Bildung feinkörniger käsiger Massen, sondern unter Bildung einer glasigen Substanz (Cadiot, Gilbert und Roger[4])).

Die künstliche Infection des Geflügels mit dem Bacillus der Hühnertuberculose lässt sich durch Einverleibung des Materials in das Unterhautgewebe, in die Bauchhöhle, die Lunge, den Blutstrom erreichen. Vom Verdauungstractus aus scheint die Infection nicht zu gelingen. Die durch die künstliche Infection tuberculös gemachten Thiere sterben nach einem bis mehreren Monaten an Tuberculose, die sich hauptsächlich in Leber und Milz localisirt zeigt; die Lunge bleibt meist verschont. Tuberculöse Hühner übertragen die Krankheit auf den Embryo. — Gegen Säugethiertuberculose verhalten sich im

---

[1]) Eine grosse Reihe von Vogelspecies, bei denen Geflügeltuberculose beobachtet ist, findet man bei Sibley (cf. Baumgarten's Bakt. Jahresber. 1890. p. 324) aufgezählt.

[2]) Arb. a. d. path.-anat. Inst. zu Tübingen. Bd. 1. 1892. p. 320 und 336 ff.

[3]) Den ersten Nachweis von Riesenzellen bei Hühnertuberculose lieferte Weigert (Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 599). Die Literatur über die weiteren hierhergehörigen Befunde (Johne; Cadiot, Gilbert und Roger; Pfander) siehe bei Pfander (Arb. a. d. Gebiete d. path. Anat. u. Bakt. a. d. path.-anat. Institut zu Tübingen. Bd. I. 1892. p. 317).

[4]) Soc. de Biol. Paris. 18 oct. 1890.

Gegensatz dazu erwachsene Hühner so gut wie unempfänglich; Hühnerembryonen zeigen eine ganz minimale Empfänglichkeit.

Von Säugethieren hat sich bisher nur das Kaninchen empfänglich für die Infection mit Hühnertuberculose erwiesen. Nach subcutaner Impfung zeigen sich zunächst locale Abscedirungen, denen später Knötchenbildung hauptsächlich in den Lungen folgt. Hier ist also die Localisation eine andere als bei dem Geflügel.

Das für die Säugethiertuberculose so hervorragend empfängliche Meerschweinchen zeigt sich gegen die Infection mit Hühnertuberculose völlig refractär. Nach der Einverleibung der Hühnertuberculoseculturen in den Körper dieses Thieres beobachtet man keine Vermehrung, sondern ein Absterben der eingeführten Bacillen; bei dieser Gelegenheit kommt aber ein in den Hühnertuberculoseculturen enthaltenes (dem Gift der Säugethiertuberculosebacillen sehr ähnliches) Gift zur Wirkung auf den Meerschweinchenkörper, welches interstitielle Entzündungen und Atrophien der inneren Organe zur Folge hat und stets einen gewissen chronischen Marasmus hinterlässt. — Das Huhn wird viel weniger durch dieses Gift beeinflusst.

Ebenso wie das Meerschweinchen ist auch der Hund unempfänglich für die Infection mit Hühnertuberculose, selbst bei intravenöser Einverleibung, die, mit Säugethiertuberculose ausgeführt, bei dem Hunde stets die Entwickelung miliarer Tuberculose zur Folge hat (cf. p. 228, Anm. 2).

Ob der Mensch für die Infection mit Hühnertuberculose empfänglich ist, ist noch eine offene Frage.

Der Bacillus der Hühnertuberculose zeigt in seinem Färbungsverhalten ähnliche Eigenschaften wie der Tuberkelbacillus par excellence. Er soll aber die Farbstoffe etwas leichter aufnehmen als der letztere. Gegen Entfärbungsmittel (Säuren) zeigt er dieselbe Resistenz wie der Bacillus der Säugethiertuberculose.

7. Der Leprabacillus.

Bei der Lepra (Aussatz) wurden zuerst durch Armauer Hansen[1]) stäbchenförmige Organismen festgestellt. Durch Neisser[2]) wurde diese Entdeckung bestätigt. Die Leprabacillen liegen in den leprösen Neubildungen, und zwar gewöhnlich innerhalb der Gewebszellen („Leprazellen“).

Die Leprabacillen sind in ihren Eigenschaften den Tuberkel-

---

[1]) Virch. Arch. Bd. 79. 1880.

[2]) Virch. Arch. Bd. 84. 1881.

bacillen ausserordentlich ähnlich und stellen jedenfalls nahe Verwandte derselben dar. Sie erscheinen meist etwas kürzer als die Tuberkelbacillen. Es muss aber darauf hingewiesen werden, dass man nicht selten (in tuberculösem Sputum z. B.) Zusammenlagerungen von Tuberkelbacillen antrifft, die durch die Kürze der einzelnen Exemplare lebhaft an Leprabacillenzusammenlagerungen erinnern.

Die Leprabacillen haben keine Eigenbewegung.

Ueber künstliche Züchtung der Leprabacillen hat namentlich Bordoni-Uffreduzzi[1]) berichtet. Es gelang ihm im Januar 1887 gelegentlich eines Leprasectionsfalles in Turin in zwei mit dem Knochenmark der leprösen Leiche geimpften Peptonglycerinblutserum-Röhrchen bei Brüttemperatur in sieben Tagen die ersten Entwickelungsspuren eigenthümlicher Colonien zu erhalten, die aus verschieden langen, an den Enden meist keulenförmig angeschwollenen Bacillen bestanden. Die Endkeulen sah Bordoni-Uffreduzzi als vermuthliche Dauerform (Arthrospore) an. Baumgarten ist der Ansicht, dass es sich hier wohl um eine Involutionserscheinung handelt. Die Strichculturen Bordoni-Uffreduzzi's bildeten bandartige, mit zackigen Rändern versehene Colonien. Uebrigens scheint es später nicht wieder geglückt zu sein die Leprabacillen künstlich zu cultiviren.

Ueber die Frage der Sporenbildung der Leprabacillen lässt sich etwas Bestimmtes noch nicht sagen.

Die Leprabacillen lassen sich, wie in mancher anderen Hinsicht, auch in ihren färberischen Eigenschaften den Tuberkelbacillen vergleichen (cf. oben p. 98). Sie sind aber nicht so schwer färbbar wie die Tuberkelbacillen; sie nehmen zwischen den letzteren und den übrigen Bakterien eine Mittelstellung ein. Ebenso geben sie die Färbung an Entfärbungsmittel etwas leichter ab als Tuberkelbacillen. Hat man Leprabacillen im Trockenpräparat zu färben, so wird man sich mit Vortheil der oben (p. 222 ff.) zur Färbung von Tuberkelbacillen-Deckglaspräparaten angegebenen Methoden bedienen. Hat man Schnitte von Leprabacillen zu tingiren, so genügt eine etwa halbstündige Einwirkung einer der Ehrlich'schen Lösungen (p. 94) auf den Schnitt bei gewöhnlicher Temperatur. Die Leprabacillen sind dann intensiv gefärbt. Behufs der Conservirung der Schnitte empfiehlt es sich sehr, dieselben nach der bei Gelegenheit der Tuberkelbacillenfärbung (p. 225) besprochenen Unna'schen Antrocknungsmethode zu behandeln.

Die Leprabacillen färben sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.)

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887.

Als Unterscheidungsmerkmal der Leprabacillen von den Tuberkelbacillen ist von Baumgarten[1]) das verschiedene Verhalten dieser Organismen bei der Behandlung mit einfachen wässerigen Fuchsinlösungen angegeben worden. Die Leprabacillen färben sich hier (wenigstens in einzelnen Exemplaren [cf. oben p. 99]) in kurzer Zeit bei Zimmertemperatur, während sich die Tuberkelbacillen bei dieser Behandlung noch nicht färben.

Melcher und Ortmann[2]) haben über erfolgreiche Uebertragung von Lepra auf Kaninchen berichtet. Die Autoren impften Lepraknotenstückchen in die vordere Augenkammer zweier Thiere. Dieselben gingen 4 resp. $4^1/_2$ Monat später zu Grunde und zeigten ausser anderen Metastasen eine Knoteneruption im Darme, besonders in der Wand des Coecums, die die Autoren als Lepra deuteten.

Im Uebrigen ist über Thierinfectionen mit Lepra wenig berichtet; und auch die Modi, die bei der Infection des Menschen hauptsächlich in Frage kommen, sowie die ganze Art und Weise des Zustandekommens der leprösen Veränderungen sind noch wenig bekannt.

Ein Photogramm von Leprabacillen bei 1000facher Vergrösserung (Ausstrichpräparat eines leprösen Hautknotens[3])) zeigt Taf. VIII, Fig. 43. Das Photogramm giebt ein typisches Bild von der ausserordentlichen Menge von Bacillen, welche sich bei der Lepra in den einzelnen Zellen angehäuft finden.

8. Bacillen bei Syphilis. Smegmabacillen.

Im Jahre 1885 machte Lustgarten[4]) in Wien eine Aufsehen erregende Mittheilung von Bacillenbefunden in syphilitischen Geweben. Lustgarten war es gelungen, in Schnitten syphilitischen Gewebes mit Hülfe einer specifischen Färbungsmethode Bacillen nachzuweisen, welche, gewöhnlich nur in wenigen Exemplaren, innerhalb von Zellen liegend angetroffen wurden. Die specifische Färbungsmethode beruht darauf, dass die in der Ehrlich'schen Anilinwassergentianaviolettlösung gefärbten und in Alcohol ausgewaschenen Präparate in einer Lösung von Kaliumpermanganat entfärbt werden. Bei dieser Entfärbung bleiben die Lustgarten'schen Bacillen gefärbt. Der

[1]) Zeitschr. f. wissensch. Mikroskopie. Bd. 1. 1884. p. 368, 369.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 9.

[3]) Das dem Präparate zu Grunde liegende Material verdanke ich Herrn Priv.-Doc. Dr. Lassar.

[4]) Wien. Med. Jahrb. 1885. — Vorläufige Mittheilung: Wiener med. Wochenschr. 1884. No. 47.

sich auf den Präparaten bildende Niederschlag von Manganhyperoxyd wird dann durch Eintauchen der Präparate in eine wässerige Lösung von schwefliger Säure entfernt. Mit derselben Methode konnte Lustgarten auch in syphilitischen Secreten (d. h. in Deckglastrockenpräparaten) ebenso gestaltete Bacillen nachweisen. Die Lustgarten'schen Bacillen ähneln in ihrer Form den Tuberkelbacillen.

Nach dieser Methode gelang es vielen Untersuchern nicht sich die Lustgarten'schen Bacillen zur Anschauung zu bringen. Dies gelang besser mit einer anderen Methode, die von de Giacomi[1]) für Trockenpräparate angegeben, von A. Gottstein[2]) auch für Schnittpräparate empfohlen wurde. Die de Giacomi'sche Methode beruht darauf, dass die Präparate in Ehrlich'scher Anilinwasserfuchsinlösung gefärbt und dann mit Eisenchloridlösung nachbehandelt werden. Aber auch mit dieser Methode ist es nicht gelungen die Lustgarten'schen Bacillen in syphilitischen Geweben constant nachzuweisen.

Dagegen fanden Alvarez und Tavel[3]) sowie Matterstock[4]) im normalen Smegma praeputiale, ferner zwischen den grossen und kleinen Labien und am Anus gesunder Menschen bestimmte Bacillenformen („Smegmabacillen"), die den Lustgarten'schen Bacillen im Aussehen gleichen und auch dieselben färberischen Eigenthümlichkeiten darbieten.[5]) Die Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen, deren künstliche Züchtung übrigens nicht gelungen ist, ist dadurch sehr in Frage gestellt worden.

Für die specifische Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen ist übrigens die gewichtige Autorität von C. Weigert[6]) in die Schranken getreten.

9. Der Rotzbacillus.

Als Ursache der Rotzkrankheit (Malleus), einer speciell bei Pferden und verwandten Thieren in Epizootien auftretenden Infectionskrankheit, die aber bekanntlich auch auf den Menschen über-

---

[1]) Corresp.-Bl. f. Schweizer Aerzte. 1885. No. 12.
[2]) Fortschr. d. Med. 1885. No. 16.
[3]) Arch. de physiol. norm. et pathol. 1885. No. 7.
[4]) Verh. d. Würzb. phys.-med. Gesellsch. Juni 1885.
[5]) Doutrelepont (Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 321) hat eine besondere Färbungsmethode angegeben, die zwar die bei Syphilis vorkommenden Bacillen, aber nicht die Smegmabacillen gefärbt zur Anschauung bringen soll.
[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. p. 885.

tragbar ist, wurde 1882 durch Loeffler und Schütz[1]) ein specifischer Bacillus, der „Rotzbacillus", ermittelt. Loeffler hat dann seine umfangreichen Studien über die Rotzkrankheit in einer ausführlichen Arbeit[2]) niedergelegt.

Der Rotzbacillus ist ein sehr kleines Stäbchen ohne Eigenbewegung. Der Bacillus lässt sich auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, bei Temperaturen zwischen 25 und 40° C. und bei Sauerstoffanwesenheit, künstlich züchten. Auf der Agaroberfläche erscheinen die Culturen als feuchtglänzende weissliche Beläge, auf Blutserum als helldurchscheinende, zerstreute, tropfenförmige Auflagerungen, die später zusammenfliessen. Das Blutserum wird nicht verflüssigt.

Sehr characteristisch ist das Wachsthum der Rotzbacillen auf Kartoffeln. Es bildet sich auf der Oberfläche der bei Brüttemperatur gehaltenen Kartoffel im Verlauf von etwa 2 Tagen zunächst ein gelblicher honigähnlicher Belag, der dann allmählich dunkler, braunroth bis dunkelroth wird.

Ob der Rotzbacillus Sporen bildet oder nicht, wurde von Loeffler unentschieden gelassen und ist auch heute noch nicht mit Sicherheit entschieden.[3]) Loeffler beobachtete eingetrocknete Rotzbacillen, die drei Monate ihre Uebertragbarkeit und ihre Virulenz behielten; diese Thatsache ist kaum anders als durch die Anwesenheit von Dauersporen zu erklären. Baumgarten und Rosenthal[4]) sind dann auf Grund gelungener „Sporenfärbung" bei den Rotzbacillen (cf. oben p. 201 ff.) für die Existenz der Sporenbildung eingetreten. Das einzig und allein mit Sicherheit in dieser Frage entscheidende Kriterium, nämlich der Nachweis der Keimfähigkeit (cf. oben p. 71), ist jedoch für die als „Sporen" gedeuteten Gebilde noch nicht geliefert worden.

Werden die künstlichen Culturen der Rotzbacillen auf Pferde oder auf andere empfängliche Thiere verimpft, so erzeugen sie das typische Bild der Rotzkrankheit. Empfänglich sind von Hausthieren — ausser Pferden und Eseln — Ziegen und Katzen, weniger empfänglich

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1882. No. 52.

[2]) Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1886.

[3]) Flügge (Grundriss d. Hyg. 1889. p. 54) spricht sich mit Sicherheit gegen die Bildung „echter Sporen" aus. Auch Boer, welcher im Koch'schen Institute arbeitete, hat (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 9. 1890. p. 481) angegeben, dass er in zahlreichen Versuchen die Sporenbildung bei den Rotzbacillen stets vermisst hat.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 13.

sind Schafe und Hunde[1]), Schweine noch weniger; Rinder erscheinen immun. Aus der Gruppe der Nagethiere sind hervorragend empfänglich die Feldmaus und, wie Kitt[2]) festgestellt hat, die Waldmaus und die Wühlmaus, ferner das Ziesel[3]); etwas weniger empfänglich sind Meerschweinchen, viel weniger Kaninchen. Ganz unempfänglich sind Haus- und weisse Mäuse[4]) sowie Ratten. Der Igel ist sehr empfänglich für die Infection.[5])

Bei fortgesetzter Züchtung auf künstlichen Nährböden verliert der Rotzbacillus seine Virulenz bald; künstliche Culturen können deshalb nur dann dauernd virulent erhalten werden, wenn sie von Zeit zu Zeit durch einen empfänglichen Thierkörper geschickt werden (cf. oben p. 179, Anm.).

Die Infection geschieht unter natürlichen Umständen wohl ausschliesslich von kleinen Verletzungen der Haut, vielleicht auch der angrenzenden Schleimhäute, aus. Es bilden sich zunächst locale Schwellungen, die gern abscediren, und denen sich Schwellungen der Lymphgefässe und Lymphdrüsen mit eventueller Abscedirung anschliessen; dann kommt es zu allgemeiner Verbreitung der Krankheit in den Körper, zur Bildung von metastatischen, an die Tuberkel erinnernden submiliaren Knötchen in den Organen. Die rotzig veränderten Gewebstheile haben grosse Neigung zur Nekrose, zum Zerfall.

Bei Pferden ist die Prädilectionsstelle für die Rotzgeschwüre die Nasenschleimhaut. Ob hier in jedem Falle auch die primäre Infection stattfindet, oder ob die Affection der Nasenschleimhaut häufig eine metastatische ist, ist noch unentschieden.

Meerschweinchen gehen nach der künstlichen subcutanen Infection im Verlaufe mehrerer Wochen, Feldmäuse schon nach 3 bis 4 Tagen zu Grunde. Bei männlichen Meerschweinchen entstehen während des Krankheitsverlaufs (besonders rapide bei intraperitonealer Infection) ganz characteristische, durch den Rotzbacillus veranlasste Hodenanschwellungen, die weiterhin zu einer Vereiterung der Hoden führen.

---

[1]) Junge Hunde sind sehr empfänglich (Flügge, Grundriss d. Hygiene. 1889. p. 54).

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 9.

[3]) Kranzfeld, Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 10.

[4]) Leo (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889) fand, dass die weissen Mäuse ihre natürliche Immunität gegen Rotz verlieren, wenn sie mit Phloridzin gefüttert werden. Die Thiere scheiden nach der Phloridzindarreichung (wie der Mensch und der Hund) Zucker aus, und diese künstlich diabetisch gemachten Thiere sind für die Rotzinfection empfänglich.

[5]) Kitt (cf. Fortschr. d. Med. 1889. p. 392).

Aus Rotzbacillenculturen haben zuerst Kalning in Dorpat und unabhängig von ihm Preusse in Danzig eine Rotzlymphe („Malleïn") hergestellt, welche — analog dem Tuberculin bei Tuberculose (cf. oben p. 231, Anm. 1) — als diagnostisches Hülfsmittel bei rotzverdächtigen Thieren benutzt werden kann. Rotzkranke Pferde antworten auf die Injection mit Temperatursteigerung.[1])

Die Rotzbacillen finden sich in den specifischen Gewebsneubildungen, namentlich in den Centren der Knötchen; sie sind in Gewebsschnitten nicht leicht darstellbar. Am besten gelingt die Darstellung noch an ganz frischem Material, während man bei älterem Material oft vergeblich versucht die Bacillen durch die Färbung sichtbar zu machen. Besonders empfohlen hat Loeffler zur Färbung seine alkalische Methylenblaulösung (cf. oben p. 83). Im Uebrigen muss man die Schnitte nach der oben (p. 85) angeführten Weigert'schen Methode behandeln und eine Kernfärbung in den Kauf nehmen. Eine Methode der isolirten Färbung der Rotzbacillen im Gewebe ist bisher nicht aufgefunden. Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färben sich die Bacillen nicht.

Taf. IX, Fig. 51, zeigt einen Schnitt durch die Lunge der inficirten Feldmaus. Man sieht hier am Schnittrande, genau in der Mitte des Bildes, eine Zelle, welche eine Anzahl Rotzbacillen enthält.

10. Der Typhusbacillus.

Die bei dem menschlichen Abdominaltyphus constant vorkommenden Bacillen, die „Typhusbacillen", wurden zuerst von Eberth[2]) gesehen. Die fast zur selben Zeit von Klebs bei Abdominaltyphus in den nekrotischen Darmpartien aufgefundenen Bacillen[3]) hält Koch[4]) nach der Klebs'schen Beschreibung ihres Aussehens nicht für Typhusbacillen, sondern für andersartige Bacillen, die nur eine secundäre Bedeutung hatten. Koch[5]) hat die Typhusbacillen etwa zu derselben Zeit wie Eberth gesehen und zuerst photographisch dargestellt. Gaffky[6]) hat dann den Typhusbacillus einem eingehenden

---

[1]) Vergl. das zusammenfassende Referat über diesen Gegenstand von Eber (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 1.)

[2]) Virch. Arch. Bd. 81, 1880 und Bd. 83, 1881.

[3]) Archiv f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. 12. 1880. p. 233. — Abbildung der Bacillen im Darmschnitt ebenda Bd. 13. 1881. p. 399.

[4]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 45.

[5]) Ebenda, Taf. IX und X.

[6]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

Studium unterworfen und seine specifische Bedeutung für die Entstehung des Abdominaltyphus im höchsten Grade wahrscheinlich gemacht.

Der Typhusbacillus ist ein kurzes, plumpes Stäbchen mit abgerundeten Enden, welches im Gewebe gewöhnlich einzeln liegt, in künstlichen Culturen aber häufig zu langen Fadenverbänden auswächst. Auf Taf. VIII, Fig. 44, ist ein Klatschpräparat von einer Gelatineplattencultur bei 1000facher Vergrösserung dargestellt; hier sieht man sowohl einzeln liegende wie in längeren Verbänden angeordnete Bacillen. Der Typhusbacillus hat lebhafte Eigenbewegung, welche durch Geisselfäden bewirkt wird. Die letzteren sind dem einzelnen Bacillus, und zwar nicht nur den Enden, sondern auch den Seitenwandungen desselben, in grosser Zahl angeheftet. Jeder einzelne Bacillus trägt etwa 8—12 Geisseln. Die mikroskopische Darstellung dieser Gebilde (nach der Loeffler'schen Methode) ist oben (p. 75 ff.) besprochen.[1] Auf Taf. VIII, Fig. 45, ist ein nach der genannten Methode dargestelltes Präparat bei 1000facher Vergrösserung wiedergegeben. Man findet hier mehrere einzeln liegende Bacillen mit ihren Geisseln sowie auch einen aus einer Reihe von Bacillen bestehenden Faden, welchem die Geisseln seitlich angeheftet sind.

Der Typhusbacillus gedeiht am besten bei Sauerstoffanwesenheit. Er wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden (selbst bei leicht saurer Reaction derselben [cf. oben p. 21]); am besten gedeiht er bei Brüttemperatur; er kommt aber auch bei Zimmertemperatur fort.

Die Gelatine wird niemals verflüssigt. Die Colonien haben auf der Gelatineplatte sowohl wie in der Stichcultur die Tendenz, sich hauptsächlich oberflächlich auszubreiten. Es bildet sich ein oberflächlich weiter kriechender, die Gelatine mehr und mehr überziehender, unregelmässig begrenzter, grauweisser irisirender Belag. Taf. VIII, Fig. 48, zeigt eine Oberflächen-Strichcultur auf Gelatine. Das Wachsthum ist von dem dünnen, in dem Photogramm deutlich zu sehenden, in der Mitte der Wucherung liegenden Impfstriche ausgegangen. Auf Agar bildet sich ein grauweisser, feuchter Ueberzug.

Einigermassen characteristisch ist das Wachsthum des Typhusbacillus auf Kartoffeln. Die inficirten Kartoffelflächen lassen „im Laufe der folgenden Tage für das blosse Auge nur sehr geringe Veränderungen erkennen. Die besäeten Flächen scheinen wohl ein etwas gleichmässigeres und feuchteres Aussehen anzunehmen; doch sieht man makroskopisch von einem Wachsthum

---

[1]) Vergl. namentlich Anm. 2 auf p. 76.

nichts. Versucht man aber — etwa nach 48 Stunden — mit der Platinnadel von der Oberfläche eine geringe Menge zur mikroskopischen Untersuchung zu entnehmen, so erhält man den Eindruck, als ob die ganze Fläche in eine zusammenhängende resistentere Haut verwandelt wäre, ohne dass sich von Eintrocknung auch nur eine Spur wahrnehmen liesse. Von welcher Stelle der Oberfläche man aber auch ein minimales Kartoffelstückchen entnehmen mag, überall, auch an den nicht besäeten Partien, findet man bei der mikroskopischen Untersuchung in ganz überraschenden Mengen die verimpften Bacillen, meist von der gewöhnlichen Länge, zum Theil aber auch in Form längerer Scheinfäden. Die ganze Oberfläche scheint fast nur aus den Bacillen zu bestehen."[1]) Die Erscheinungsweise der Kartoffelcultur der Typhusbacillen lässt die letzteren von anderen, im Uebrigen ähnlichen Bakterienarten unterscheiden. Und es ist andererseits, will man bestimmte, im Darminhalt, im Boden, im Wasser aufgefundene Bakterien als Typhusbacillen ansprechen, durchaus nothwendig, die Charactere der Kartoffelcultur der zu beurtheilenden Bakterien festzustellen. Allerdings kommen von dem genannten „typischen" Aussehen der Kartoffelcultur auch Abweichungen vor. E. Fraenkel und Simmonds[2]) haben zuerst darauf aufmerksam gemacht, dass die Typhusbacillen auf manchen Kartoffelsorten graue, in ihren Grenzen deutlich erkennbare, schmierige Beläge bilden. Zum Zustandekommen der „typischen", von Gaffky beschriebenen Erscheinungsweise der Kartoffelcultur scheint die normale, leicht saure Reaction der Kartoffel unerlässlich zu sein.

Nach einem absolut sicheren Kennzeichen des Typhusbacillus, welches gestattet, denselben unter allen Umständen als solchen zu erkennen, wird immer noch gesucht.[3]) Ein solches sicheres und constantes Merkmal des Typhusbacillus ist aber ausserordentlich erwünscht angesichts des Umstandes, dass in der Natur (im Inhalt unseres Darmes, im Boden, im Wasser etc.) Bakterienarten weit verbreitet vorkommen, die morphologisch sowohl wie in ihrem Culturverhalten dem Typhusbacillus höchst ähnlich sind. Vor Allem kommt hier in Betracht das Bacterium coli commune, welches sich in Faeces ganz regelmässig vorfindet, und welches demnach in verunreinigtem Wasser, im Boden etc. ebenfalls häufig angetroffen werden kann.

---

[1]) Wörtlich aus der Arbeit Gaffky's, l. c. p. 388, 389.

[2]) Zeitschr. f. Hygiene. Bd. 2. 1887.

[3]) cf. R. Koch. 10. internat. med. Congr. Berlin 1890. Verhandlungen Bd. I. p. 38.

Von Chantemesse und Widal[1]) wurde (1887) angegeben, dass der Typhusbacillus eine grössere Resistenz gegen geringe Mengen von Carbolsäure (die dem Nährboden zugesetzt wird) besitze als andere Bakterienarten; und es wurde diese Eigenschaft des Typhusbacillus zur Differentialdiagnose und zur Trennung von anderen Arten empfohlen. Spätere Untersuchungen haben jedoch ergeben, dass eine zur differentiell-diagnostischen Verwerthung ausreichende Resistenz des Typhusbacillus gegen Carbolsäure nicht besteht.[2])

Diagnostisch verwerthbar dagegen ist nach den Ermittelungen von Kitasato neben der Kartoffelcultur das Verhalten der Bouilloncultur beim Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure[3]) (d. h. beim Zusatz von salpetriger Säure). Während nämlich bei den dem Typhusbacillus ähnlichen Bakterienarten nach diesem Zusatze eine Rothfärbung eintritt (Indolreaction), bleibt diese Rothfärbung in den Typhusbacillusculturen aus. Die Typhusbacillen produciren, zum Unterschied von sonst ähnlichen Arten, kein Indol.[4])

Ferner ist von grosser diagnostischer Bedeutung die Gährungsprobe. Th. Smith[5]) hat (1890) angegeben — und diese Angabe hat sich durchaus bestätigt — dass der Typhusbacillus bei seinem Wachsthum in 2 proc. Traubenzucker-Bouillon[6]) keine Gasbildung hervorruft, während ähnliche Bakterienarten, speciell auch das Bacterium coli commune, Gasbildung bewirken.[7]) Die Gährungsprobe wird am besten in den oben (p. 136, Anm. 1) erwähnten Gährungskölbchen angestellt.

---

1) Arch. de physiol. norm. et path. 1887. No. 3.

2) So fand z. B. Dunbar (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 506), dass dem Bacterium coli commune eine grössere Resistenz gegen Carbolsäure zukommt als dem Typhusbacillus.

3) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889. — Zu 10 ccm der Cultur wird 1 ccm einer 0,02 proc. Lösung von reinem Kaliumnitrit zugegeben; dann werden einige Tropfen concentrirte Schwefelsäure zugefügt (l. c. p. 518).

4) Wie Kitasato (l. c. p. 519), so hat auch Lewandowsky (Deutsche med. Wochenschr. 1890. p. 1186) eine Reihe der wichtigsten Bakterienarten auf ihre Fähigkeit, Indol (resp. Phenol) zu bilden, geprüft.

5) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 16. p. 504.

6) Nährbouillon (cf. p. 118), welcher vor der Sterilisirung 2 % Traubenzucker zugesetzt sind.

7) Eine Säuerung der 2 proc. Traubenzucker- (oder Milchzucker-) Bouillon wird, wie Th. Smith später (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 367) mitgetheilt hat, sowohl durch den Typhusbacillus wie auch durch das Bacterium coli commune hervorgerufen. Rohrzucker wird nach Th. Smith durch keine der beiden Arten vergohren.

Zur Unterscheidung des Typhusbacillus von dem Bacterium coli commune ist ferner vortrefflich brauchbar das Verhalten der beiden Organismen bei der Cultivirung in steriler Milch. Der Typhusbacillus bewirkt eine geringe Säuerung, aber, selbst bei Monate langem Stehen bei Brüttemperatur, keine Gerinnung der Milch, während das Bacterium coli bei 37° C. bereits in 24 bis 48 Stunden starke Säuerung und Gerinnung der Milch hervorruft.[1]) Damit in Uebereinstimmung steht auch die (bereits 1889) von Petruschky[2]) festgestellte Thatsache, dass der Typhusbacillus auf neutraler Molke (Milchserum) sehr geringe Mengen Säure bildet (in Volumprocenten der zur Neutralisirung verbrauchten $^1/_{10}$ Normalnatronlauge ausgedrückt 2—3 %), während das Bacterium coli auf demselben Nährboden erheblich grössere Mengen (7—8 %) Säure bildet.

Was die Diagnosticirung resp. Identificirung des Typhusbacillus im Uebrigen angeht, so sei auf die oben (p. 169, Anm. 1) gegebenen allgemeinen Erörterungen über die Identificirung von Bakterienarten, die specifisch für den Menschen pathogen sind, hingewiesen: Stammt das zu bestimmende Material unmittelbar von einem verdächtigen Krankheitsfalle, oder ist es der frischen Leiche entnommen, so macht die Diagnose in der Regel keine Schwierigkeiten; das Kriterium des unmittelbaren Zusammenhanges mit dem Krankheitsfalle beschränkt das Gebiet, in das hinein die aufgefundenen Bakterien gehören können, sofort in ganz bestimmter Weise. Stammt das Material dagegen aus irgend einer anderen Quelle, aus Wasser, aus dem Boden, aus älteren Fäces etc., so sind wir — bei dem Mangel eines empfänglichen Versuchsthieres — lediglich darauf angewiesen, die Culturmerkmale der aufgefundenen Bakterien auf das Sorgfältigste nach allen Richtungen hin zu untersuchen. Stimmen die Culturmerkmale in allen Beziehungen mit denen einer authentischen Typhusbacillencultur überein, so sind wir vollberechtigt, auszusprechen, dass die zu bestimmenden Bakterien mit dem Typhusbacillus höchstwahrscheinlich identisch seien. Eine absolute Sicherheit in der Diagnose (wie sie z. B. bei der Identificirung des Milzbrandbacillus, des Rotzbacillus, des Schweinerothlaufbacillus etc. durch die Thierimpfung ohne Weiteres errreicht wird) ist hier nicht möglich.

Gaffky war durch seine Untersuchungen zu dem Schlusse geführt worden, dass die Typhusbacillen (endständige) Sporen bilden,

---

[1]) Cf. Chantemesse und Widal (Soc. de Biol. Paris. 7 nov. 1891), ferner Dunbar (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 491).

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. p. 662.

die sich bei Brüttemperatur in den Culturen innerhalb 3 bis 4 Tagen entwickeln. Es fehlen diesen „Sporen“ jedoch wesentliche Charactere, welche man an endogenen Sporen nicht zu vermissen gewohnt ist, vor Allem die Resistenz gegen die Einwirkung höherer Temperaturen. Besonders durch Buchner[1]) ist später auf Grund experimenteller Untersuchungen die Sporenbildung bei den Typhusbacillen lebhaft bestritten worden. Es unterliegt jetzt keinem Zweifel mehr, dass Sporenbildung bei dem Typhusbacillus nicht existirt.

Aus Culturen der Typhusbacillen auf Rindfleischbrei hat Brieger[2]) ein giftiges Alkaloid, ein „Toxin“, isolirt, welches die Zusammensetzung $C_7 H_{17} NO_2$ hat. In Organen der menschlichen Typhusleiche haben Brieger und Wassermann[3]) giftige Eiweisskörper nachgewiesen.

Der Typhusbacillus ist auf Thiere nicht übertragbar. Von mehreren Seiten wurden im Jahre 1886 angeblich gelungene Thierversuche publicirt; es hat sich aber feststellen lassen, dass es sich in den Fällen mit anscheinend positivem Ergebnisse um Intoxicationen mit den giftigen Stoffwechselproducten der Typhusbacillenculturen gehandelt hat, und dass die Typhusbacillen im Körper der Versuchsthiere sich nicht zu vermehren vermögen.[4]) Durch Einverleibung allmählich steigender Dosen (lebender) Typhusbacilluscultur erreichten Beumer und Peiper[5]) eine gewisse Giftfestigung bei Mäusen. Chantemesse und Widal[6]) erreichten dasselbe auch mit Culturen, die durch Erhitzung auf 120° C. abgetödtet waren. Uebrigens haben Brieger, Kitasato und Wassermann[7]) darauf aufmerksam gemacht, dass die Giftigkeit verschiedener Typhusculturen für Mäuse von Hause aus sehr verschieden ist.

Bei der Infection des Menschen bildet der Darm stets die Eingangspforte. Man findet in der Typhusleiche die Bacillen innerhalb der Darmwand, in den Mesenterialdrüsen, ferner besonders in Milz, Leber und Nieren. In den letztgenannten Organen treten die Bacillen

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 12—13.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 18. p. 283.

[3]) Charité-Annalen. 17. Jahrgang. 1892. p. 822 ff.

[4]) Eine begrenzte Vermehrung der Typhusbacillen findet nach Petruschky (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 269) bei Mäusen, denen das Material intraperitoneal injicirt wird, statt, aber nur auf der Oberfläche des Bauchfells; eine Ansiedlung der Bacillen in den Organen kommt nicht zu Stande.

[5]) Zeitschr. für Hygiene. Bd. 2. 1887.

[6]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. p. 56.

[7]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 166.

stets in grösseren oder kleineren Anhäufungen, Herden, auf; und zwar liegen sie innerhalb der Blutgefässe. Auf Taf. VIII, Fig. 47, ist ein Herd aus einer Typhusleber bei 200facher Vergrösserung dargestellt; Fig. 46 zeigt einen Theil dieses Herdes bei 500facher Vergrösserung; die Mitte der Figur 46 entspricht genau der Mitte der Figur 47.

Beim lebenden Typhuskranken fand zuerst A. Pfeiffer[1]) die Typhusbacillen im Stuhl. Dieser Befund ist jedoch kein constanter.[2]) Dann wies Neuhauss[3]) den Typhusbacillus im peripherischen Blute (im Blute der Roseolen) des Typhuskranken nach. Andere Autoren haben ihn dann auch im Fingerblute gefunden. Jedoch sind alle diese Befunde nur vereinzelt; die Untersuchungen sind oft mit negativem Ergebniss wiederholt worden. In einer Anzahl von Typhusfällen findet man den Typhusbacillus auch im Urin.

Im Blutserum von Typhusreconvalescenten wies Stern[4]) (durch Versuche an Mäusen) Körper nach, welche gegen die Typhusintoxication immunisirend wirken (cf. oben p. 189).

In der Literatur finden sich zahlreiche Angaben, welche den gelungenen Nachweis des Typhusbacillus im Trinkwasser, besonders in verunreinigtem Brunnenwasser, betreffen. In einer Anzahl dieser Fälle, besonders in solchen, bei denen unter Zuhülfenahme sämmtlicher zugängiger Kriterien (s. oben) gearbeitet wurde, ist es nicht unwahrscheinlich, dass es sich in der That um den Typhusbacillus gehandelt hat; ebenso ist es wahrscheinlich, dass die natürlichen Infectionen des Menschen mit Abdominaltyphus häufig durch den Genuss von bacillenhaltigem Trinkwasser vermittelt werden.

Die Typhusbacillen färben sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.). Sie nehmen ferner die Färbung mit Anilinfarben überhaupt etwas schwieriger an als andere Bakterienarten. Färbt man ein Trockenpräparat, welches man sich aus einer Typhusbacillencultur hergestellt hat, mit einer gewöhnlichen wässerigen Farblösung in der gewöhnlichen Weise, so findet man viele Exemplare nicht intensiv, sondern nur blass gefärbt. Es empfiehlt sich deshalb, die Färbung unter leichter Erwärmung (cf. p. 73) zu bewirken.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 29.

[2]) Nach Karlinski (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. p. 83) ist der Typhusbacillus vor dem 9. Krankheitstage nie im Stuhl zu finden.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 6 u. 24.

[4]) Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 37.

11. Der Bacillus der Mäusesepticaemie und der Bacillus des Schweinerothlaufs.

Die Mäusesepticaemie ist eine experimentelle Infectionskrankheit, welche R. Koch bei seinen „Untersuchungen über die Aetiologie der Wundinfectionskrankheiten“ [1]) entdeckte. Haus- und weisse Mäuse, denen faulendes Blut, faulendes Fleischinfus subcutan eingebracht wurde, gingen an einer Septicaemie zu Grunde. [2]) Die inneren Organe zeigten sich makroskopisch im Allgemeinen unverändert; nur bestand beträchtliche Milzschwellung. Die Krankheit liess sich von einer Maus auf die andere durch cutane Impfung mit den geringsten Mengen von Blut der gestorbenen Thiere übertragen.

Ueberall im Blut fand Koch sehr kleine Stäbchen, 0,8—1,0 μ lang, 0,1—0,2 μ dick. Dieselben liegen fast stets einzeln, sind häufig in Zellen eingeschlossen.

Ob die Stäbchen Eigenbewegung haben, erscheint noch zweifelhaft.

Die Bacillen der Mäusesepticaemie zeigen ein ganz characteristisches Wachsthum in der Nährgelatine. Auf Platten erscheinen im Verlaufe einiger Tage hellgraue, durchscheinende, Nebel-, Schleier-, Wolkenartige runde Flecken. In der Gelatinestichcultur beobachtet man um den Impfstich herum die Ausbildung horizontal gestellter, schichtweise über einander liegender wolkiger Trübungen (siehe Taf. IX, Fig. 54). Die Gelatine wird ganz langsam verflüssigt, und dementsprechend kommen sowohl auf den Gelatineplatten wie in den Sticheulturen Verdunstungserscheinungen des Nährbodens, dellenartige resp. tulpenförmige Einziehungen der Gelatine, zu Stande.

Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus äusserst zarte, kaum sichtbare, in feinsten Tröpfchen angeordnete Ueberzüge.

Auf Kartoffeln wächst der Bacillus nicht.

Milch wird durch das Wachsthum des Bacillus makroskopisch nicht verändert; in Traubenzuckerbouillon entsteht keine Gährung. [3])

---

[1]) Leipzig. 1878. p. 40—45.

[2]) Kürzlich hat Loeffler (Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. p. 130) den in Rede stehenden Bacillus auch als spontanen Erreger einer epidemischen Erkrankung unter in Gefangenschaft gehaltenen weissen Mäusen beobachtet. Bei dieser Epidemie wurde die Krankheit höchst wahrscheinlich durch Aufnahme des Erregers in den Digestionstractus übertragen.

[3]) Nach Moore; cf. das Referat von Th. Smith, Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 732.

Im hängenden Tropfen bei Brüttemperatur wächst der Bacillus nicht, wie man das sonst bei Bacillen häufig sieht, zu langen Fäden aus, sondern vermehrt sich zu dichten Haufen. In einigen Fällen hat Koch Sporenbildung beobachtet.

Haus- und weisse Mäuse sind für die Infection sehr empfänglich; sie sterben 40—60—80 Stunden nach der Impfung. Man findet sie, was für die Krankheit ganz specifisch ist, nach dem Tode in sitzender Stellung mit stark gekrümmtem Rücken. Feldmäuse sind vollständig immun, ebenso Hühner und Meerschweinchen.

Der Mäusesepticaemiebacillus färbt sich leicht mit wässerigen Farblösungen; ebenso färbt er sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Auf Taf. IX, Fig. 53, ist ein Ausstrichpräparat von dem Herzblut einer an Mäusesepticaemie verendeten Maus bei 1000facher Vergrösserung dargestellt.

Dem Mäusesepticaemiebacillus in seinem gesammten Verhalten höchst ähnlich, vielleicht mit demselben identisch, ist der Bacillus des Schweinerothlaufs.

Der Schweinerothlauf (rouget des porcs) ist eine, besonders unter den edleren Schweinerassen in den ersten Lebensjahren epizootisch auftretende, unter dem Bilde einer Septicaemie verlaufende schwere Infectionskrankheit. Den veranlassenden Bacillus fand zuerst Loeffler[1]) (1882) in dem Blute und den Organen der Thiere. Er züchtete bereits 1882 diesen Bacillus rein und erkannte seine Pathogenität für Mäuse und Kaninchen. Er fand damals auch, dass Kaninchen durch einmaliges Ueberstehen der Infection immun werden gegen eine neue Infection. Schweine zu inficiren gelang Loeffler nicht; wie sich nämlich später herausgestellt hat, sind die gemeinen Landrassen so gut wie unempfänglich für die Krankheit. Namentlich durch Schütz[2]) ist dann der Schweinerothlauf genauer studirt und seine Aetiologie sicher festgestellt worden.[3])

---

[1]) Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1886.

[2]) Ebenda.

[3]) Nach C. O. Jensen (Kopenhagen) tritt der Schweinerothlauf in folgenden verschiedenen (sämmtlich durch den specifischen Bacillus veranlassten) wohlcharacterisirten Formen auf (zwischen denen jedoch ab und zu Uebergangsformen vorkommen): 1) „Rouget blanc"; seltenere, schnell verlaufende, ohne Rothfärbung der Haut einhergehende Form, 2) Rothlauf im engeren Sinne, 3) diffuse nekrotisirende Hautentzündung (trockener Hautbrand), 4) Nesselfieber, Urticaria (dänisch Knuderosen = Knotenrothlauf), 5) Endocarditis verrucosa bacillosa. (Deutsche Zeitschr. f. Thiermed. u. vgl. Path. Bd. 18. 1892. p. 298.)

Schütz hält die Identität der Erreger der Koch'schen Mäusesepticaemie und des Schweinerothlaufs für wahrscheinlich. Durch Kitt[1]) ist festgestellt, dass auch insofern eine Uebereinstimmung besteht, als der Rothlaufbacillus, wie der Mäusesepticaemiebacillus, zwar für Haus- und weisse Mäuse, nicht aber für Feldmäuse pathogen ist.

Refractär sind gegen Schweinerothlauf Rinder, Schafe, Pferde, Maulesel, Esel, Hunde, Katzen, Meerschweinchen, Feldmäuse, Waldmäuse, Hühner, Gänse, Enten. Auch auf den Menschen ist eine Uebertragung nicht beobachtet.

Die Virulenz des Bacillus wird bei der wiederholten Verimpfung von Kaninchen zu Kaninchen abgeschwächt (Pasteur, Kitt). Durch Impfung mit dem abgeschwächten Bacillus lassen sich, wie Pasteur (cf. oben p. 181) gefunden hat, Schweine immun machen gegen die Infection mit dem virulenten Bacillus.[2])

Die Infection der Schweine mit Schweinerothlauf scheint unter natürlichen Verhältnissen durch die Aufnahme der sehr virulenten Excremente erkrankter Schweine mit der Nahrung in den Darmkanal zu erfolgen.

12. Der Diphtheriebacillus.

Die bei der menschlichen Diphtherie vorkommenden Bakterien wurden zuerst von Loeffler[3]) einer eingehenden Untersuchung mit Hülfe der modernen bakteriologischen Methoden unterworfen. Loeffler constatirte das ziemlich constante Vorkommen einer bestimmten, künstlich züchtbaren Bacillenart[4]), mit der es zwar nicht gelang bei Thieren echte Diphtherie hervorzurufen, der aber doch Thieren gegenüber eine erhebliche Giftigkeit zukam. Freilich fand Loeffler dieselbe Bacillenart auch einmal in der Mundhöhle eines gesunden Kindes: und er hat sich deshalb sehr reservirt bezüglich der etwaigen Specifität der gefundenen Bacillen für die Diphtherie ausgesprochen. Neuere

---

[1]) cf. Skizze des Autors im Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 23.

[2]) Neuerdings hat Lorenz in Darmstadt (Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 11/12) ein Schutzimpfungsverfahren für Schweine angegeben, welches mit Hülfe des Blutserums von Schweinen ausgeführt wird, die gegen Schweinerothlauf immunisirt sind, und die kurze Zeit vor der Blutentnahme eine neue Injection virulenter Cultur erhielten.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884.

[4]) Mikroskopisch waren diese Bacillen vor Loeffler bereits von Klebs (2. Congr. f. inn. Med. Wiesbaden. April 1883) gesehen worden.

Untersuchungen von Loeffler[1]) sowie von Roux und Yersin[2]), von Zarniko[3]), von Escherich[4]), von Brieger und C. Fraenkel[5]) und von anderen Autoren haben nun gezeigt, dass der Loeffler'sche „Diphtheriebacillus“ allerdings ein ganz constantes Vorkommniss bei der Diphtherie ist. Ferner sind eine Reihe von Thatsachen bezüglich des Verhaltens dieses Bacillus gegenüber Versuchsthieren ermittelt worden, die keinen Zweifel mehr lassen, dass wir in dem Loeffler'schen Bacillus den Erreger der menschlichen Diphtherie[6]) vor uns haben.

Der Diphtheriebacillus ist ein Stäbchen, welches etwa die Länge des Tuberkelbacillus besitzt, aber etwa doppelt so breit wie dieser ist. Das morphologische Verhalten wechselt aber. Häufig finden sich leicht gekrümmte Exemplare; auch bizarre Formen mit kolbig verdickten, knotig aufgetriebenen Enden sind häufig (Involutionserscheinungen). Im gefärbten Präparate zeigt der Diphtheriebacillus ganz gewöhnlich ein segmentirtes Aussehen. Fig. 50 auf Taf. IX zeigt ein Ausstrichpräparat einer Agarcultur, welches das geschilderte morphologische Verhalten deutlich zur Anschauung bringt.

Der Bacillus findet sich gewöhnlich ausschliesslich in den diphtherischen Pseudomembranen, sonst nirgends im Körper des Erkrankten.[7]) Die schweren Allgemeinsymptome der Diphtherie beruhen auf Intoxi-

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 4.

[2]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 12; 1889. No. 6; 1890. No. 7.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 6—8.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 7. 1890. No. 1.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 11—12.

[6]) Man muss unterscheiden zwischen 1) „Diphtherie“, d. h. der specifischen uralten contagiösen Krankheit, und 2) pathologisch-anatomisch diphtherie-ähnlichen Affectionen. Die letzteren bezeichnet man zur Unterscheidung von der echten, genuinen Diphtherie auch als „Diphtheritis“. So spricht man z. B. von „Scharlachdiphtheritis“, einer Affection, welche, wie bereits Bretonneau 1821 überzeugend ausführte, ätiologisch mit der echten Diphtherie gar nichts zu thun hat, und bei der auch Loeffler (und ebenso die späteren Untersucher) die bei der echten Diphtherie vorkommenden Stäbchen stets vermissten. (Siehe die Eingangs citirte Arbeit von Loeffler, p. 449, 450). Bei der Scharlachdiphtheritis findet sich ganz regelmässig der Streptococcus pyogenes, welcher übrigens auch die genuine Diphtherie sehr häufig complicirt.

[7]) Es kommt aber auch, wie neuere Untersuchungen gezeigt haben, gar nicht selten vor, dass der Diphtheriebacillus — durch das Culturverfahren — in den inneren Organen nachweisbar ist. Frosch (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1892) hat in 10 von 15 zur Section gekommenen Diphtheriefällen den Diphtheriebacillus durch die Cultur in den inneren Organen nachzuweisen vermocht. Am regelmässigsten fanden sich die Bacillen in pneumonischen Herden, in der Milz, in Cervical- und Bronchiallymphdrüsen.

cation des Körpers durch die am Orte der Infection von dem Bacillus gebildeten höchst giftigen Stoffwechselproducte. Auf Taf. IX, Fig. 49, sieht man einen Durchschnitt durch eine diphtherische Pseudomembran mit Stäbchenhaufen.[1])

Nicht nur während des Verlaufs der Diphtherieerkrankung, sondern häufig auch noch wochenlang nach dem Verschwinden der Beläge, während der Reconvalescenz, sind (infectionstüchtige) Diphtheriebacillen in der Mundhöhle der Patienten nachweisbar.[2])

Der Bacillus ist unbeweglich. Er wächst bei Temperaturen zwischen 20 und 42° C. Er wächst sowohl in Gelatine wie auf anderen Nährböden. Die Nährböden müssen stets leicht alkalisch sein. Besonders eignet sich das Loeffler'sche Blutserum (3 Theile Rinder- und Hammelserum vermischt mit einem Theile einer Rinderbouillon, der 1 % Pepton, ½ % Kochsalz und 1 % Traubenzucker zugesetzt ist), ferner das Glycerin-Agar (cf. oben p. 117) zur Cultivirung. Zum Zwecke der Isolirung des Bacillus aus dem erkrankten Körper streicht man nach dem Vorgange von Loeffler[3]) ein sehr kleines, an der Platinöse haftendes Stückchen der Pseudomembran hinter einander auf der Oberfläche des Nährbodens von 6—8 Blutserum-[4]) oder Glycerin-agar-Röhrchen (schräg erstarrt; cf. oben p. 118) aus. Die Röhrchen werden dann in den Brütschrank gestellt. In den letzten Röhrchen kommen isolirte Colonien zur Entwickelung, die dann weiter verimpft werden. Nach Roux und Yersin[5]) erhält man auf diese Weise, wenn es sich überhaupt um echte Diphtherie handelt, fast stets ohne Weiteres grosse Mengen von Diphtheriebacillencolonien.

---

[1]) Dass sich häufig neben den Diphtheriebacillen noch andere Mikroorganismen, namentlich Streptococcen, in den Pseudomembranen finden, haben wir oben (p. 255, Anm. 6) bereits erwähnt. Den Streptococcen kommt ohne Zweifel nur eine secundäre Bedeutung zu.

[2]) Auf dem 10. internat. med. Congress 1890 hat Loeffler (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. p. 664) einen Diphtheriefall mitgetheilt, in welchem er aus dem Rachen des Erkrankten bis zum 24. Tage nach dem Beginn der Erkrankung (fieberlos war der Kranke seit dem 5. Krankheitstage) infectionstüchtige Diphtheriebacillen zu züchten vermochte. — Tobiesen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 17) hat 46 geheilte Diphtheriepatienten bei ihrer Entlassung aus dem Krankenhause auf die Anwesenheit von Diphtheriebacillen im Schlunde untersucht und bei 24 von ihnen (am 4. bis 31. Tage nach dem Verschwinden der Beläge) mit Sicherheit Diphtheriebacillen nachzuweisen vermocht.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 461, 462.

[4]) Nach Frosch (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1892. p. 52) wachsen die Diphtheriebacillen auf Agar, welches mit menschlichem Blut bestrichen ist, ebenso gut wie auf Blutserum.

[5]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 7. p. 389.

Auf dem Loeffler'schen Serum bilden die Bacillen bei 37° C. in 2 Tagen einen dicken, weisslichen, glänzenden Ueberzug.

Auf Agar ist das Wachsthum zunächst kein besonders ausgiebiges; bei weiteren Umzüchtungen wird das Wachsthum ein erheblich besseres, zugleich stellt sich eine Abnahme der Virulenz ein. Die Beläge auf Agar haben ein weissliches, mattglänzendes Aussehen.

Auf der Gelatineplatte bildet der Diphtheriebacillus (bei etwa 22—24° C.) rundliche, die Gelatine nicht verflüssigende Colonien, welche dauernd klein bleiben. In der Stichcultur bilden sich kleine, weisse, kugelförmige Colonien längs des Impfstiches.

Bei der Züchtung in Bouillon giebt der Diphtheriebacillus zu ganz mässiger allgemeiner Trübung des Nährbodens Veranlassung; ferner bilden sich kleine krümelige, bröckelige, aus Bacillen bestehende Conglomerate, welche besonders den Wandungen des Culturgefässes ansitzen und bei dem Bewegen der Flüssigkeit sich ablösen und zu Boden sinken.

Auf der Kartoffel wächst der Bacillus nur, wenn die Oberfläche derselben alkalisch gemacht wird. Die Milch ist ein günstiger Nährboden für den Bacillus.

Sporenbildung scheint nicht zu existiren.

Im getrockneten Zustande (in Stückchen von Pseudomembranen) bleibt der Diphtheriebacillus 3—4 Monate lang entwickelungsfähig.

Der Diphtheriebacillus gehört zu den exquisit toxischen Bakterienarten (cf. oben p. 175). Er bildet — sowohl in künstlichen Culturen wie im Körper des Diphtheriekranken — ein specifisches Gift[1]), über dessen Natur noch wenig Sicheres bekannt ist. Ausserordentlich wichtig ist die von Guinochet[2]) festgestellte Thatsache, dass das specifische Diphtheriegift auch bei der Cultivirung des Diphtheriebacillus in sterilisirtem Urin gebildet wird, und dass die resultirende giftige Culturflüssigkeit keinerlei Eiweissreaction liefert. Das specifische Diphtheriegift gehört hiernach nicht zu den Eiweisskörpern.

Die schweren Allgemeinsymptome, welche bei der diphtherischen Erkrankung des Menschen auftreten, sind auf die Wirkung des — an der Infectionsstelle von den sich vermehrenden Diphtheriebacillen gebildeten und von dort aus in den Körper hineingelangenden — specifischen Diphtheriegiftes zu beziehen.

---

[1]) Diese Thatsache wurde zuerst (1888) von Roux und Yersin (Ann. de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 12. p. 642 ff.) und (ebenfalls 1888) unabhängig von diesen Autoren auch von Loeffler (Deutsche med. Wochenschr. 1890. p. 109) festgestellt.

[2]) Arch. de méd. expér. t. 4. 1892. p. 494.

Das Diphtheriegift resp. gifthaltige Culturen der Diphtheriebacillen wirken auch auf eine grosse Reihe von Thieren in specifischer Weise. Meerschweinchen, welche ganz besonders empfänglich sind, sterben nach subcutaner Einverleibung der kleinsten Mengen innerhalb 24 bis 72 bis 96 Stunden. Sie zeigen einen für die Diphtherieintoxication ganz characteristischen Sectionsbefund [1]), nämlich Schwartenbildung an der Infectionsstelle (nur bei sehr schnell verlaufender Krankheit findet sich statt der Schwartenbildung Oedemflüssigkeit), Pleura- (zuweilen auch Pericardial-) transsudat, Blutüberfüllung der Bauchorgane und Vergrösserung und Rothfärbung der Nebennieren. Ebenso sind Hammel sehr empfänglich für die Diphtherieintoxication (Behring und Wernicke). Kaninchen, Tauben, Hühner sind weniger empfänglich als die genannten Species. Junge Hunde verhalten sich sehr empfänglich. Verimpft man virulente Cultur auf die Vagina von Meerschweinchen, so entsteht nekrotisirende Schleimhautentzündung. Auf der eröffneten Trachea von Meerschweinchen und Kaninchen entwickelt sich nach der Impfung eine echte Diphtherie (Brieger und C. Fraenkel). Sehr wichtig ist die ganz sicher constatirte Thatsache (Roux und Yersin. Brieger und C. Fraenkel), dass sich bei längerer Krankheitsdauer bei den Versuchsthieren häufig echte diphtherische Lähmungen entwickeln.

Mäuse [2]) und Ratten, Pferde und Rinder verhalten sich refractär.

Oben (p. 188) wurde bereits erwähnt, dass es Behring und Wernicke [3]) gelungen ist, diphtherieempfängliche Thiere künstlich gegen die specifische Intoxication zu festigen, und dass das Blut resp. das Blutserum der immunisirten Thiere diphtheriegiftzerstörende Eigenschaften besitzt. Die letzteren Eigenschaften befähigen das Serum, wie wir sahen, den Zustand der Diphtheriegiftfestigkeit auf empfängliche Individuen zu übertragen und event. auch diphtherieerkrankte Individuen zu heilen. Ueber die Methoden der primären Immunisirung der Thiere siehe oben p. 191.

An dem Blutserum diphtheriegenesener Menschen wiesen Kle-

---

[1]) cf. Behring. Deutsche med. Wochenschr. 1890. p. 1145; Behring und Wernicke. Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 17.

[2]) Nach V. Babes (Virch. Arch. Bd. 119. 1890. p. 468) sind junge weisse Mäuse für die (subcutane) Infection mit Diphtheriebacillen ziemlich empfänglich.

[3]) cf. Behring. Deutsche med. Wochenschr. 1890. No. 50; Behring und Wernicke, Zeitschr. f. Hyg. Bd 12. 1892; Wernicke. Physiol. Gesellsch. Berlin, 3. Febr. 1893.

mensiewicz und Escherich[1]) meerschweinchenimmunisirende Eigenschaften nach.

Aus Diphtheriebacillenculturen stellten Brieger und C. Fraenkel[2]) einen überaus giftigen Eiweisskörper (kein Alkaloid) dar, welcher in die Gruppe der von diesen Forschern entdeckten „Toxalbumine" (cf. oben p. 41) gehört. Dieser giftige Eiweisskörper ist nach den oben über die Natur des specifischen Diphtheriegiftes gegebenen Erörterungen mit dem letzteren nicht identisch.

Der Diphtheriebacillus färbt sich mit wässerigen Farbstofflösungen, besonders gut mit der Loeffler'schen Methylenblaulösung (p. 83); er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100ff.).

In der Mund- und Rachenhöhle findet sich nicht ganz selten ein dem Loeffler'schen Diphtheriebacillus morphologisch und in der Cultur sehr ähnlicher, aber nicht virulenter Bacillus, der „Pseudodiphtheriebacillus".[3]) Derselbe wurde zuerst von Loeffler[4]) gesehen, dann auch von v. Hofmann[5]) studirt. Dieser Pseudodiphtheriebacillus lässt sich dadurch von dem echten Diphtheriebacillus unterscheiden, dass er, in alkalischer Bouillon gezüchtet, die Reaction derselben unverändert lässt. Der echte Diphtheriebacillus hingegen macht die ursprünglich leicht alkalische Bouillon zunächst sauer; später, oft allerdings erst nach Monaten[6]), wird die Reaction wieder alkalisch. Ueber das Verhältniss des Pseudodiphtheriebacillus zum Diphtheriebacillus gehen die Meinungen der Autoren noch auseinander. Nicht unmöglich ist es, dass, wie Roux und Yersin[7]) annehmen, der Pseudodiphtheriebacillus nur eine nicht pathogene Varietät des echten Diphtheriebacillus darstellt.

13. Die Bacillen der Septicaemia haemorrhagica.

Unter der Bezeichnung „Septicaemia haemorrhagica" hat Hueppe[8]) eine Reihe von (nicht auf den Menschen übertragbaren)

---

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 5/6.
[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 11—12.
[3]) Der „Pseudodiphtheriebacillus" soll etwas kürzere und dickere Formen bilden und auf den Nährböden etwas üppiger gedeihen als der echte Diphtheriebacillus. Nach Gram färbt er sich wie dieser.
[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. No. 4.
[5]) Tagebl. d. 60. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Wiesbaden 1887. p. 119—120.
[6]) Escherich, Berl. klin. Wochenschr. 1893. p. 520.
[7]) Ann. de l'Inst. Pasteur. 1890. No. 7. p. 413, 414.
[8]) Berl. klin. Wochenschr 1886. No. 44—46.

Thierkrankheiten zusammengefasst, welche durch Bakterien veranlasst werden, die einander sehr nahe verwandt sind, wenn sie auch nicht direct als identisch betrachtet werden dürfen.

Es gehören hierher die Hühnercholera, die experimentelle und die spontane Kaninchensepticaemie, die deutsche Schweineseuche, die Rinder- und Wildseuche, die italienische Büffelseuche, die amerikanische Schweineseuche, die dänische Schweinepest, die Marseiller Schweineseuche, die Frettchenseuche, der Mäusetyphus und vielleicht noch einige andere Thierseuchen.

Die Hühnercholera (Geflügelcholera, choléra des poules) ist eine unter dem Geflügel des Hofes oft epizootisch auftretende, mit Diarrhöen einhergehende, bei Hühnern in 1 bis 2 Tagen tödtlich endende Infectionskrankheit.

Durch Perroncito, dann besonders durch Pasteur, wurden in dem Blut und den Organen der Thiere sowie in dem Darminhalt derselben constant vorkommende, eigenthümlich gestaltete Bakterien nachgewiesen, die durch Pasteur (1880) reingezüchtet wurden, und deren specifische pathogene Bedeutung durch erfolgreiche Uebertragung auf gesunde Thiere durch Pasteur festgestellt wurde.

Die Hühnercholerabacillen sind kurze, plumpe Stäbchen mit etwas abgerundeten Enden, die häufig einzeln, aber auch zu mehreren verbunden angetroffen werden und sich bei der Färbung mit Anilinfarbstoffen dadurch vor anderen ähnlichen Stäbchen auszeichnen, dass sie sich nur an den Endpolen färben, während ihre Mitte ungefärbt bleibt.

Die Hühnercholerabacillen sind unbeweglich.

Sie wachsen auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur; auf Kartoffeln findet nur bei Brüttemperatur Wachsthum statt, und zwar auch da nur mässiges.

In Gelatinestichculturen kommt die Entwickelung sowohl im Verlaufe des Impfstiches wie auch auf der Oberfläche zu Stande: auf der Oberfläche bildet sich ein zarter, weissgrauer Belag. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar und Blutserum bilden sich glänzende, weissliche Beläge.

Sporenbildung existirt bei den Hühnercholerabacillen nicht.

Unter natürlichen Verhältnissen wird die Infection der Hühner, wie sicher nachgewiesen ist, dadurch vermittelt, dass die Excremente der kranken Thiere, welche sehr reich an den Bacillen sind, von gesunden Thieren mit der Nahrung in den Darmkanal aufgenommen werden.

Künstlich lässt sich die Infection sowohl durch Verfütterung der Culturen wie durch cutane oder subcutane Einverleibung übertragen. Die Hühner zeigen ausser der Septicaemie hämorrhagische Enteritis: der Darminhalt ist reich an den specifischen Bakterien. Neben Hühnern sind Gänse, Tauben, Sperlinge, Mäuse und Kaninchen empfänglich. Meerschweinchen erscheinen fast unempfänglich. Auf Taf. IX, Fig. 52, ist ein Ausstrichpräparat des Herzblutes einer Taube dargestellt, welche an der Infection zu Grunde gegangen war. Man sieht hier, zwischen den rothen Blutkörperchen (von denen nur die Kerne deutlich hervortreten), die in characteristischer Weise an den Endpolen gefärbten kleinen Stäbchen liegen.

Bekanntlich ist die Hühnercholera diejenige Krankheit, bei der zuerst eine Abschwächung der Virulenz pathogener Bakterien (durch Pasteur 1880; cf. oben p. 178) festgestellt wurde. Pasteur fand, dass künstliche Culturen der Hühnercholerabakterien bei einfachem längeren Stehen an der Luft ihre Fähigkeit verloren hatten, Hühner tödtlich zu inficiren. Die geimpften Thiere erkrankten nur örtlich und zeigten sich nachher immun gegen Infection mit virulenten Culturen.

Der Hühnercholerabacillus färbt sich mit wässerigen Farbstofflösungen; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Die Kaninchensepticaemie. Durch subcutane Injection von Pankewasser (die Panke ist ein in Berlin mündendes Nebenflüsschen der Spree) in den Kaninchenkörper erhielt Gaffky[1]) zuerst diese experimentelle Infectionskrankheit. Die Kaninchen gehen innerhalb 16—20 Stunden nach der Impfung zu Grunde und zeigen überall im Blut und in den Organen Organismen, welche in ihrem gesammten Verhalten den Hühnercholerabakterien gleichen.

Von dem Bacillus der experimentellen Kaninchensepticaemie (und damit auch von dem Hühnercholerabacillus) abweichend verhält sich der Erreger der „spontanen“ Kaninchensepticaemie, welcher von Eberth und Mandry[2]) beschrieben worden ist. Es handelt sich um einen eigenbeweglichen Bacillus, der in den Culturmerkmalen sich nicht wesentlich von dem Hühnercholerabacillus unterscheidet; dagegen finden sich bedeutende Unterschiede in den pathogenen Eigenschaften. Sperlinge, Mäuse, Kaninchen verhalten sich

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 102, 104.
[2]) Virch. Arch. Bd. 121. 1890.

ziemlich empfänglich, Tauben und Meerschweinchen weniger; Hühner verhalten sich auch sehr grossen Dosen gegenüber ganz refractär.

Die (deutsche) Schweineseuche. Dieselbe ist eine früher mit Schweinerothlauf (s. oben p. 253) zusammengeworfene Krankheit, welche jedoch von Loeffler[1]) als selbständige Krankheit erkannt wurde. Loeffler fand 1882 in der Halshaut und den Organen eines angeblich an Rothlauf verendeten Schweines sehr kleine ovoide Bakterien, welche mit den Hühnercholerabakterien die grösste Aehnlichkeit hatten. Loeffler cultivirte die Schweineseuchebakterien auch bereits rein. Schütz[2]) hat dann später die Schweineseuche eingehend studirt und mit den reingezüchteten Bakterien Schweine erfolgreich inficirt.

Ein Unterschied zwischen den Hühnercholerabakterien und den Erregern der Schweineseuche besteht insofern, als die letzteren für Hühner und Tauben fast völlig indifferent, für Meerschweinchen aber sehr virulent sind. Hühnercholerabakterien verhalten sich gerade entgegengesetzt. Im Uebrigen aber sind irgendwie durchgreifende Unterschiede nicht zu verzeichnen.

Die Rinder- und Wildseuche. Dieselbe ist eine früher häufig mit Milzbrand verwechselte, dann von Bollinger als selbstständige Krankheit erkannte, epizootisch auftretende Infectionskrankheit, welche Roth- und Schwarzwild, aber auch Pferde und Rinder spontan befällt und je nach dem Infectionsmodus in einer cutanen (septicaemischen), einer pectoralen (pneumonischen) und einer intestinalen Form auftritt. Die bei der Wildseuche vorkommenden specifischen Bakterien wurden zuerst von Kitt[3]) gesehen; durch Kitt und durch Hueppe[4]) ist dann die Krankheit genauer studirt und durch den letzteren Forscher ihre Zugehörigkeit zu der in Besprechung stehenden Gruppe von Krankheiten, für die Hueppe, wie bereits erwähnt, die Bezeichnung „Septicaemia haemorrhagica“ schuf, festgestellt worden.

Die (italienische) Büffelseuche („Barbone dei bufali“). Die Aetiologie der Krankheit wurde zuerst von Oreste und Armanni[5]) genauer studirt. Der Barbone ist eine in Italien heimische, vornehm-

---

[1]) Arbeiten a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. I. 1886. p. 51 ff.
[2]) Ebenda p. 376 ff.
[3]) Sitzungsber. d. Ges. f. Morph. u. Physiol. zu München. 10. Nov. 1885.
[4]) Berl. klin. Wochenschr. 1886. No. 44—46.
[5]) cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 2. 1887. p. 50—56.

lich die jungen Büffel im Sommer befallende, mit hohem Fieber, Störung des Allgemeinbefindens und localen entzündlichen Oedemen, namentlich der Kehlgegend, einhergehende, meist innerhalb von 12 bis 24 Stunden tödtlich endende Infectionskrankheit, die epidemisch auftritt und oft viele Opfer fordert.

Im Blute und in dem Exsudate der localen Schwellungen fanden die genannten Autoren einen dem Erreger der (deutschen) Schweineseuche in hohem Grade ähnlichen Organismus, mit dessen Reinculturen an einer Anzahl von Thierspecies Impfungen mit positivem Erfolge ausgeführt werden konnten. Ein junger Büffel, ein junges Schwein, ein junges Pferd, eine junge Kuh, ein Schaf, ferner Mäuse, Ratten, Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben, Hühner zeigten sich empfänglich.

Die amerikanische Schweineseuche wurde bezüglich ihrer Aetiologie zuerst studirt von Salmon[1]) und von Billings.[2]) Salmon ist dafür eingetreten, dass es zwei aetiologisch von einander verschiedene Schweineseuchen in Amerika giebt: „Hog Cholera" und „Swine Plague". Ob eine solche Trennung zu Recht besteht, ist bis heute noch nicht sicher entschieden. Von dem Erreger der deutschen Schweineseuche sind die Bakterien der amerikanischen Schweineseuche aber leicht zu unterscheiden. Die letzteren zeigen (zum Unterschiede von den Bakterien der deutschen Schweineseuche) Eigenbewegung, sie wachsen ferner gut auf Kartoffeln.

Den Erregern der amerikanischen Schweineseuche in seinem gesammten Verhalten sehr nahe steht ein Bacterium, welches von Selander[3]) als Erreger der dänischen Schweinepest (Svinpest) nachgewiesen wurde.

Eine ähnliche Bakterienart wurde von Rietsch, Jobert und Martinand[4]) als Ursache einer 1887 in Marseille beobachteten, von Afrika eingeschleppten Schweineepidemie (Marseiller Schweineseuche) aufgefunden.

Die Frettchenseuche. Diese gelegentlich spontan in Epidemien auftretende Infectionskrankheit wurde bezüglich ihrer Aetiologie

---

[1]) cf. Baumgarten's Bakteriol. Jahresber. 1886. p. 150, 151; 1887. p. 127 bis 129; 1888. p. 128.

[2]) cf. Baumgarten's Bakteriol. Jahresber. 1887. p. 130; 1888. p. 129; 1889. p. 178.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 3. 1888. No. 12.

[4]) Acad. des sciences. Paris. 23 janvier et 9 avril 1888. (Compt. rend. t. 106. p. 296 et 1096).

von Eberth und Schimmelbusch[1]) studirt. Makroskopisch fand sich bei der Krankheit besonders Pneumonie und Milztumor. Mikroskopisch wurde im Blut und in den Organen ein kurzer, facultativ anaërober, mit lebhafter Eigenbewegung begabter Bacillus gefunden, welcher im Uebrigen grosse Aehnlichkeit mit dem Hühnercholerabacillus besitzt. Derselbe ist namentlich für Sperlinge pathogen, bei denen er nach subcutaner Impfung einen localen Eiterherd und den Tod durch Septicaemie veranlasst. Hühner aber verhalten sich refractär.

Der Mäusetyphus. Im Jahre 1890 beobachtete Loeffler[2]) unter den im hygienischen Institut zu Greifswald gehaltenen weissen Mäusen eine Epidemie, welcher in kurzer Zeit 69 % der Thiere erlagen. Die Krankheit, welche sich dadurch fortpflanzte, dass die todten Thiere von den gesunden angefressen wurden, zeigte sich bedingt durch einen specifischen, bis dahin unbekannten Bacillus (Bacillus des Mäusetyphus, Bac. typhi murium).

Es handelt sich um kurze Bacillen mit lebhafter Eigenbewegung. Die letztere wird bedingt durch seitenständige Geisseln. Künstliche Züchtung gelingt auf den gewöhnlichen Nährböden bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf der Platte bilden die oberflächlichen Colonien häutchenartige Ausbreitungen, in ähnlicher Weise wie es beim Typhusbacillus der Fall ist, oder auch dickere Flecken. Im Bereiche der Colonien trübt sich die Gelatine leicht. Auf der Agaroberfläche entstehen grauweisse Beläge, auf der Kartoffel weissliche Auflagerungen, in deren Umgebung sich die Kartoffel schmutzig graublau färbt. In Peptonzuckerbouillon findet unter starker Trübung Säurebildung und Gasentwickelung statt. Milch wird sauer, ihr Aussehen nicht verändert. Sporenbildung wurde nicht beobachtet.

Der beschriebene Bacillus ist für eine ganze Reihe von Thierspecies pathogen; bei Verfütterung des Infectionsmateriales zeigen sich jedoch ausschliesslich die (weisse und graue) Hausmaus (Mus musculus) und die Feldmaus (Arvicola arvalis) empfänglich. Die graue Hausmaus ist etwas widerstandsfähiger gegen die Infection als die weisse.[3]) Nach der spontanen Infection der weissen Mäuse während der oben erwähnten Epidemie verflossen gewöhnlich

[1]) Fortschr. d. Med. 1888. No. 8; Virch. Arch. Bd. 115. 1889 und Bd. 116. 1889.
[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 5.
[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. p. 648.

1 bis 2 Wochen bis zum Tode. Die gestorbenen Thiere zeigten Milztumor, Hämorrhagien der Magen- und Dünndarmschleimhaut, Röthung der Peyer'schen Plaques, geschwollene und von Hämorrhagien durchsetzte Mesenterialdrüsen. Ueberall in den Organen, speciell in der Leber und den Mesenterialdrüsen, ferner in der Milz, in manchen Fällen auch im Herzblut, fanden sich, und zwar in den Gefässen liegend, die beschriebenen Bacillen. Häufig waren herdförmige Anordnungen der Bacillen in den Organen, wie beim menschlichen Abdominaltyphus; die Bacillen waren oft in Zellen eingeschlossen.

Nach der künstlichen Infection per os gingen Feldmäuse in 6 bis 8 bis 12 Tagen zu Grunde; die subcutane Infection tödtete diese Thiere innerhalb 2 bis 4 Tagen.

Katzen, Ratten, Brandmäuse (Mus agrarius), kleine Vögel, Tauben, Hühner, Meerschweinchen, Kaninchen, Ferkel zeigten sich bei Verfütterung des Infectionsmateriales unempfänglich. Durch subcutane Einverleibung liessen sich kleine Vögel, Ratten, Tauben, Meerschweinchen inficiren; Kaninchen zeigten sich dabei wenig empfänglich.

Mit Hülfe des Mäusetyphusbacillus hat Loeffler im April 1892 die Feldmausplage in Thessalien erfolgreich bekämpft.[1]) Es ist bei dieser Gelegenheit auch erwiesen worden, dass der genannte Bacillus für den Menschen (per os einverleibt) unschädlich ist.[2])

Einen dem Mäusetyphusbacillus äusserst ähnlichen, jedenfalls mit demselben nahe verwandten Bacillus hat Laser[3]) im Februar 1891 als Erreger einer Epidemie, die unter den Feldmäusen des hygienischen Instituts zu Königsberg auftrat, ermittelt. Dieser Bacillus hat auch das Gemeinsame mit dem Mäusetyphusbacillus, dass er bei der Einverleibung per os nur die Hausmaus und die Feldmaus zu tödten vermag.

Der Laser'sche Bacillus tödtet die Thiere im Allgemeinen in etwas kürzerer Zeit als der Loeffler'sche.[4])

14. Der Bacillus des grünen oder blauen Eiters.

Der Bacillus des grünen oder blauen Eiters (Bacillus pyocyaneus, Bacterium aeruginosum) ist die Ursache des öfters zu

[1]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 1.
[2]) Ebenda. p. 12.
[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 11. 1892. No. 6/7. — Ebenda Bd. 13. 1893. No. 20.
[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. p. 649.

beobachtenden spontanen Grün- oder Blauwerdens des Eiters und der Verbandstoffe in Krankenanstalten. Aus derartigem Eiter kann er durch das Plattenverfahren leicht in Reincultur gewonnen werden.

Der Bacillus pyocyaneus wurde zuerst von Gessard (1882) gesehen.

Der Bacillus ist ein kleines, schlankes Stäbchen von der Länge des Mäusesepticaemiebacillus, aber etwas dicker als dieser (Flügge), welches einzeln oder in kleinen Verbänden auftritt und lebhafte Eigenbewegung besitzt. Das Stäbchen trägt eine einzige Geissel (Loeffler), welche sich nach der oben (p. 75 ff.) besprochenen Geisselfärbungsmethode mikroskopisch darstellen lässt.

Der Bacillus ist facultativ anaërob. Er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, und zwar bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur.

Auf der Gelatineplatte bilden die Colonien unregelmässig begrenzte, flach ausgebreitete Beläge, in deren Bereich die Gelatine mässig schnell verflüssigt wird, während die Umgebung sehr bald eine grüne Fluorescenz annimmt. Dementsprechend gestaltet sich auch das Wachsthum der Stichcultur. Auch hier tritt lebhafte grüne Fluorescenz ein.

Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus weissliche Beläge, unter denen der Nährboden grün gefärbt wird. Auf Kartoffeln entstehen dicke, gelbgrüne bis bräunliche Ueberzüge, in deren Umgebung die Kartoffel sich grün färbt.

Der Bacillus vermag mehrere Farbstoffe zu bilden; die wichtigsten sind das blaue Pyocyanin und ein fluorescirender grüner Farbstoff. Die Natur des im Einzelfalle gebildeten Farbstoffes ist von der jeweiligen Zusammensetzung des Nährbodens abhängig; andererseits bildet der Bacillus pyocyaneus auch Varietäten, welche sich in der Farbstoffproduction von einander unterscheiden.[1]) Zuerst durch P. Ernst[2]) wurden Varietäten des Bacillus pyocyaneus („Bac. pyoc. α“ und „Bac. pyoc. β“) statuirt. Die α-Varietät producirt einen gelbgrünen Farbstoff, verflüssigt die Gelatine langsam und lässt die ganze, auch die unverflüssigte Gelatine grün fluoresciren; die β-Varietät producirt einen blaugrünen Farbstoff, verflüssigt die Gelatine schnell und hat sehr wenig fluorescirende Kraft.

Sporenbildung existirt bei dem Bacillus pyocyaneus nicht.

---

[1]) cf. Gessard, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. No. 2.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

Der Bacillus bildet giftige Stoffwechselproducte. Er vermag auch, wie die Untersuchungen von Ledderhose[1]) und von Charrin[2]) gezeigt haben, im Körper empfänglicher Thiere sich zu vermehren. Am intensivsten wirkt die intravenöse Einverleibung, weniger intensiv die intraperitoneale oder subcutane. Besonders empfänglich sind Kaninchen und Meerschweinchen. Nach subcutaner Injection nicht zu kleiner Mengen frischer Bouilloncultur gehen die Thiere unter Entwickelung localer eitriger Entzündung bald zu Grunde; bei intraperitonealer Einverleibung entsteht eitrige Peritonitis.

Bei fortgesetzten Uebertragungen von Thier zu Thier scheint die Virulenz des Bacillus zuzunehmen.

Durch Einverleibung kleiner Culturmengen sowie durch Einverleibung der bakterienfreien Stoffwechselproducte des Bacillus lassen sich Kaninchen gegen die Pyocyaneus-Infection immunisiren. Das Blutserum des immunisirten Kaninchens hat (im Gegensatz zu dem Serum normaler Kaninchen) bactericide Eigenschaften dem Bacillus pyocyaneus gegenüber (Bouchard.[3]))

Auch für den Menschen scheint der Bacillus pyocyaneus unter Umständen pathogen werden zu können.

15. Der Kommabacillus der Cholera asiatica (Vibrio cholerae asiaticae).

Im Jahre 1883 wurde durch Rob. Koch ermittelt, dass in allen Fällen von Cholera asiatica eine ganz bestimmte Bakterienart gefunden wird, und dass diese Bakterienart ausschliesslich bei Cholera asiatica vorkommt. Man findet in den Ausleerungen von Cholerakranken kommaförmig gekrümmte, lebhaft bewegliche Bacillen („Kommabacillen der Cholera", „Choleravibrionen"); in der frischen Choleraleiche findet man dieselben ebenfalls im Darminhalt, ferner in dem Gewebe der Darmwand, sonst jedoch — in bei weitem der grössten Mehrzahl der Fälle — nirgends im Körper.[4])

Der Choleravibrio ist ein kommaförmig gekrümmtes Stäbchen, welches in seiner Länge die Hälfte bis zwei Drittel eines Tuberkel-

[1]) Deutsche Zeitschr. f. Chir. Bd. 28. 1888.

[2]) La maladie pyocyanique. Paris 1889.

[3]) cf. oben p. 186, Anm. 1.

[4]) In vereinzelten Fällen sind Cholerabakterien auch in anderen Organen gefunden worden. So berichtet z. B. V. Babes (6. internat. Congr. f. Hyg. u. Demogr. Wien 1887. Verhandlungen Heft 18. p. 78), dass er die Cholerabakterien öfters in der Niere von Choleraleichen angetroffen habe. Aehnliche Befunde sind auch von anderen Seiten publicirt worden.

bacillus erreicht, aber dicker als dieser ist. Die Organismen werden meist einzeln angetroffen, und zwar (wenn sie sich in lebensfrischem Zustande befinden) in lebhafter Bewegung. In künstlichen Culturen, besonders wenn der Nährboden bereits anfängt erschöpft zu werden, kommt es — und zwar dadurch, dass die Kommabacillen nach der Theilung nicht mehr aus einander fallen — auch zur Bildung spirillenförmiger Gebilde. Taf. X, Fig. 55 und 56, zeigen Cholerabacillen aus Gelatineculturen. Auf Fig. 55 sieht man die Stäbchen einzeln liegend; auf Fig. 56 sind Spirillen abgebildet, welche sich in der erwähnten Weise gebildet haben. Die Spirillenbildung fasst man als eine Involutionserscheinung auf. Eine Vergleichung der beiden genannten Photogramme, die bei gleicher Vergrösserung hergestellt sind, zeigt auch deutlich, dass die Spirillen dicker sind als die noch frisch vegetirenden Kommabacillen; die Anschwellung des Bakterienleibes bei der Involution hatten wir aber als eine gewöhnliche Erscheinung kennen gelernt (cf. oben p. 15). Die „Spirillen" trifft man, wie gesagt, in künstlichen Culturen häufig. In dem Darmgewebe der Choleraleiche sind sie, soviel bekannt, nur ein einziges Mal, durch H. Kühne[1]), gefunden worden.

Bei der Betrachtung des Photogramms Fig. 55 auf Taf. X fällt es ohne Weiteres auf, dass nicht alle abgebildeten Bakterienzellen die typische Kommaform besitzen. Es ist das eine Beobachtung, die man bei jedem einzelnen Präparate, welches man sich von Cholerabakterien herstellt, machen wird. Immer wird man — in dem einen Falle mehr, in dem anderen weniger — Zellen finden, die von der typischen Kommaform abweichen und sich der Gestalt gerade gestreckter Stäbchen nähern. Hat man künstliche Culturen vor sich, so findet man im Allgemeinen die Kommaform um so ausgeprägter, je jünger und lebensfrischer die Cultur ist, je weniger bereits Erschöpfung des Nährbodens eingetreten ist. Abgesehen von diesen in einer und derselben Cultur auftretenden, von den Lebensbedingungen abhängigen Formverschiedenheiten scheinen aber bei dem Choleravibrio je nach der Provenienz des Materiales Formunterschiede vorzukommen: Von der einen Epidemie herstammende Culturen scheinen mehr zur Bildung typisch kommaförmig gekrümmter Zellen zu neigen, während von einer anderen Epidemie herstammende Culturen mehr der gerade gestreckten Form sich nähernde Stäbchen zu produciren scheinen.[2])

Durch Loeffler[3]) sind an dem Cholerabacillus endständige

---

[1]) cf. A. Pfeiffer, Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 11.
[2]) cf. Gruber und Wiener, Arch. f. Hyg. Bd. 15. 1892.
[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. p. 218.

Geisseln nachgewiesen worden; jedes Komma besitzt eine einzige Geissel, welche an dem einen Ende angeheftet ist. Die mikroskopische Darstellung der Geisseln ist oben (p. 75 ff.) ausführlich besprochen. Auf Taf. X, Fig. 57, ist ein nach der Loeffler'schen Methode hergestelltes Präparat von Cholerabacillen dargestellt, welches die Geisseln deutlich erkennen lässt. Die Cholerabacillen erscheinen in dem Photogramm Fig. 55 (in gewöhnlicher Weise gefärbtes Präparat) erheblich dünner als in der Fig. 57 (nach der Loeffler'schen Geisselfärbungsmethode behandeltes Präparat). Der Grund dafür ist, wie wir bereits oben (p. 79) erörterten, der, dass in dem ersteren Präparate nur der Protoplasmakörper, der Kern der Bakterienzellen gefärbt ist, während in dem letzteren Präparate auch die Hülle, die Membran der Zellen die Färbung angenommen hat.

Der Cholerabacillus wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden; er wächst bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur, bei letzterer aber erheblich schneller. Er wächst am besten in Gegenwart von Sauerstoff, kann aber auch Sauerstoffmangel ertragen.

Oben (p. 113) haben wir schon erwähnt, dass der Choleravibrio stets eine alkalische Reaction des künstlichen Nährbodens beansprucht. Vor Allem kommt dieser Punkt bei Nährgelatine, welche für Cholerauntersuchungen verwendet werden soll, in Betracht. Verschiedene Nährgelatinen, die sich — bei im Uebrigen gleicher Zusammensetzung — in der chemischen Reaction von einander unterscheiden, zeigen stets ein differentes Wachsthum der eingesäeten Cholerabacillen. Im Allgemeinen giebt es ein Optimum der Alkalescenz, einen Alkalescenzgrad, bei welchem der Cholerabacillus am besten gedeiht.[1]) Entfernt sich die chemische Reaction der Gelatine von diesem Optimum, wird die Alkalescenz geringer, so wächst der Cholerabacillus langsamer[2]); und bei neutraler oder gar schwach saurer Reaction des Nährbodens wird das Wachsthum ein minimales oder kann selbst gänzlich ausbleiben.

Auf der Gelatineplatte bildet der Choleravibrio zunächst rund-

---

[1]) Dahmen (Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 18. p. 620) findet, dass der beste Alkalescenzgrad dadurch erreicht wird, dass man der kochenden, zunächst (unter Verwendung von Lackmuspapier) genau neutralisirten Gelatine auf 100 ccm 1 g krystallisirtes kohlensaures Natron zusetzt. — Flügge (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 195) giebt folgende Vorschrift für die Alkalisirung der Nährböden: Zu einem Liter Bouillon sind 35 ccm, zu einem Liter Nährgelatine 55 ccm einer Sodalösung zuzufügen, welche 10,6 % durch Glühen von Natriumbicarbonat hergestellte Soda enthält.

[2]) Natürlich ist dann auch die eintretende Verflüssigung eine verzögerte (cf. E. Fränkel, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 46).

lich gestaltete, nicht glatt, sondern etwas unregelmässig, höckerig begrenzte Colonien, deren Inhalt ausgesprochen grobkörnig ist: bei 100facher Vergrösserung erscheinen die Colonien „wie mit kleinen Glasstückchen bestreut" (Koch). Die Colonien sind zunächst im Ganzen hell, werden dann, in Folge der Vermehrung der Organismen, in der Mitte etwas undurchsichtiger, in der Durchsicht also dunkler, und zeigen sich in späteren Stadien ihrer Entwickelung am Rande häufig wie mit einem Kranze sehr feiner radiär gerichteter Spitzen besetzt. Auf Taf. XI, Fig. 61 und 62, sind Plattencolonien des Cholerabacillus bei 100facher Vergrösserung dargestellt. Fig. 61 zeigt eine Platte nach 30stündigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. Man sieht hier an den scharf eingestellten Colonien deutlich das grobkörnige Gefüge und den unregelmässigen Rand. Auf Fig. 62 sind 2 Colonien, die eine nach 48stündigem, die andere nach 72stündigem Wachsthum, dargestellt; die letztere zeigt den mit feinen Spitzen besetzten Rand. Hand in Hand mit dem Wachsthum geht eine, nicht sehr schnelle, Verflüssigung der Gelatine. Die Platte zeigt dann an dem Orte der einzelnen Colonien leichte, trichterförmige Einsenkungen, welche das Zeichen dafür sind, dass an diesen Stellen mehr von dem Wassergehalt der Gelatine durch Verdunstung verloren gegangen ist als an den übrigen Stellen, d. h. dass hier Verflüssigung der Gelatine eingetreten ist. Oben sahen wir schon, dass auf der einen Gelatine die Cholerabacillen schneller wachsen und demgemäss auch schneller Verflüssigung bewirken als auf der anderen. Geht nun die Verflüssigung der Gelatine sehr energisch vor sich, so sieht man häufig bereits am zweiten oder dritten Tage die Colonien am Rande ganz unregelmässig zerklüftet, mit feinen Anhängseln versehen etc. Diese Erscheinung, welche besonders bei hoher Aussentemperatur beobachtet wird, ist einfach so zu deuten, dass die (eigenbeweglichen) Cholerabakterien in die die Colonie umgebende Gelatine, welche durch den Verflüssigungsprocess weicher zu werden beginnt, hier und da activ hineinwandern und sich dort dann weiter vermehren. In diesem Sinne ist auch eine Erscheinung zu deuten, die man an sehr dicht besäeten Choleraplatten (und auch an Platten anderer eigenbeweglicher verflüssigender Bakterien), und zwar ebenfalls besonders bei hoher Sommertemperatur, häufig beobachtet: Man sieht nach 24stündigem Wachsthum die Platte bei mikroskopischer Betrachtung von sehr kleinen, äusserst dicht liegenden, ganz unregelmässig gestalteten, nicht rund geformten, sondern meist mit feinen spitzen zipfelartigen Ausläufern versehenen Colonien erfüllt; diese Colonien sind deshalb in so unregelmässiger Weise gewachsen, weil die durch den Verflüssigungsprocess, event. auch durch die hohe Aussen-

temperatur, in ihrer Consistenz geschädigte Gelatine den eigenbeweglichen Bakterienzellen beliebige Ortsveränderungen gestattet.

Das Wachsthum der Choleravibrionen in der Gelatinestichcultur ist ein dem Wachsthum auf der Platte entsprechendes. Man findet auch hier eine (in der Regel langsame) Verflüssigung, namentlich der obersten Theile des Stiches. In dem obersten Theile des Impfstiches kommt es sehr bald zur Bildung einer trichterförmigen Einsenkung der Gelatine; von der Seite her betrachtet sieht man den Impfstich an dieser Stelle erweitert, die Gelatine schliesst hier eine mit der äusseren Luft communicirende runde Luftblase ein. Nach unten zu geht der Trichter über in den nur wenig erweiterten, nur wenig verflüssigten Stichkanal, der den grössten Theil der in der Cultur gewachsenen Bakterienmasse in Form eines zierlich aufgedrehten Fadens enthält. Eine Stichcultur von typischer Gestalt zeigt Fig. 63 auf Taf. XI. Später wird dann allmählich die gesammte Gelatine verflüssigt.

Auf der Agaroberfläche wachsen die Cholerabacillen in Form eines grauweissen, saftig glänzenden Ueberzuges. Auf Agarplatten oberflächlich aufgeimpfte Cholerabacillen wachsen zu runden Colonien aus, welche ein eigenthümlich hellgraubraunes, transparentes Aussehen haben (Koch).

In Bouillonculturen bilden die Cholerabacillen ausser einer allgemeinen Trübung der Flüssigkeit häufig (aber nicht immer) oberflächliche Kahmhäute. Das Letztere kann man auch in älteren Gelatinestichculturen beobachten.

Blutserum wird durch die Bacillen langsam verflüssigt.

Auf Kartoffeln wachsen die Cholerabacillen bei Temperaturen unter 21 bis 22° C. gewöhnlich nicht. Bei 22° C. bildet sich ein weissgelblicher bis bräunlichgelber, honigähnlicher, saftig glänzender Belag. Dasselbe Aussehen hat auch die bei Brüttemperatur gezüchtete Kartoffelcultur; nur geht hier das Wachsthum schneller vor sich. Auf manchen Kartoffelsorten scheint der Cholerabacillus schlecht oder überhaupt nicht zu wachsen. Hier hat man mit Vortheil die Alkalisirung der Kartoffelfläche mit Hülfe von Sodalösung angewandt; ein vortrefflicher Nährboden für den Cholerabacillus wird auch erzielt, wenn man die Kartoffelstücke mit einer etwa 3 proc. Kochsalzlösung imprägnirt oder noch besser sie damit kocht. [1])

Ueber das Verhalten der Cholerabakterien in Milch lauten die Angaben der Autoren einander widersprechend.

---

[1]) cf. Voges, Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 17; B. Fischer, Deutsche med. Wochenschr. 1893. p. 542.

Dauerformen sind bei den Cholerabacillen nicht bekannt. Die von Hueppe[1]) statuirte „Arthrosporenbildung“ hat mit der Bildung irgendwie besonders resistenter Fruchtformen jedenfalls nichts zu thun (cf. oben p. 17). In alten Culturen findet man häufig kleine Körnchen, Kugeln, ferner allerhand Missbildungen. Diese Dinge sind sammt und sonders als Involutionsformen aufzufassen (vergl. Fig. 56, Taf. X).

Die Cholerabacillen verlangen, wie bereits wiederholt hervorgehoben wurde, zu ihrem Gedeihen einen schwach alkalischen Nährboden; gegen die geringsten Mengen freier Säure (namentlich Mineralsäure) verhalten sie sich sehr empfindlich. Ein Zusatz von 0,07 bis 0,08 % Salz- oder Salpetersäure zum neutralen Nährboden hemmt bereits die Entwickelung (Kitasato[2]). Diese Empfindlichkeit gegen Säuren ist der Grund, weshalb die Cholerabacillen den normalen Magen des Menschen gewöhnlich nicht lebensfähig zu passiren vermögen. Dasselbe gilt auch, wie wir sehen werden, für Versuchsthiere.

Ausser gegen Säuren verhalten sich die Cholerabacillen auch gegen alle übrigen chemischen Desinfectionsmittel, ferner gegen höhere Temperaturen und gegen das Austrocknen ausserordentlich empfindlich. Sie sind stets leicht zu vernichten.[3]) Wir erwähnten bereits oben (p. 29), dass ein drei Stunden langes wirkliches Trockenliegen die Cholerabacillen tödtet. Im feuchten Zustande, z. B. in künstlichen Reinculturen (namentlich auf der Agaroberfläche), kann man die Cholerabacillen mehrere Monate lang lebensfähig erhalten.

Die Cholerabacillen sind facultative, gelegentliche Parasiten. Sie finden ohne Zweifel draussen in der Natur an geeigneten Stellen die Bedingungen für ihr Fortkommen. Dies gilt namentlich für die Länder, in denen die Cholera endemisch ist.

Koch fand (cf. oben p. 155, Anm. 3) die Cholerabacillen 1884 in dem Wasser eines ostindischen Tank. Weitere Befunde von Cholerabacillen in Wasser sind von Koch und anderen Autoren gelegentlich späterer Epidemien, namentlich der des Jahres 1892, gemacht

[1]) Fortschr. d. Med. 1885. No. 19.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1888.

[3]) Zur Desinfection von Cholerastühlen empfiehlt das preussische Cultusministerium (cf. Pfuhl, Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 879) Kalkmilch (vergl. oben p. 33). Dieselbe wird aus 1 Liter zerkleinerten reinen gebrannten Kalkes und 4 Liter Wasser hergestellt und zu ungefähr gleichen Theilen mit den Dejecten vermischt. Das Gemisch soll dann mindestens 1 Stunde stehen bleiben, ehe es als unschädlich beseitigt werden darf.

worden.[1]) Im Allgemeinen aber kommen die Cholerabacillen in gewöhnlichem Wasser nicht gut weiter. Sie werden (cf. oben p. 155) von den Wasserbakterien bald überwuchert und unterdrückt. Dagegen ist sterilisirtes, keimfreies Wasser — und zwar Wasser jedweder Herkunft — ein Medium, in welchem sich die Cholerabacillen wohlbefinden, und in dem sie sich nicht unbeträchtlich vermehren können. Ferner ist die Möglichkeit natürlich nicht ausgeschlossen, dass sie gelegentlich — bei Epidemien — auch auf andere Nährböden, auf zubereitete Speisen etc., gelangen und sich dort vermehren.

Die ersten Versuche Koch's, für die Cholera empfängliche Versuchsthiere zu finden, hatten keinen Erfolg. Nicati und Rietsch[2]) gelang es dann Meerschweinchen erfolgreich dadurch zu inficiren, dass sie nach Unterbindung des Ductus choledochus den Thieren die Reincultur direct in das Duodenum injicirten. Es wurde auf diese Weise erstens die deletäre Einwirkung des sauren Magensaftes auf die Cholerabacillen umgangen und zweitens durch Absperrung der Galle die Darmperistaltik herabgesetzt. Der letztere Punkt ist von wesentlicher Bedeutung für die Ermöglichung der Ansiedelung der Cholerabacillen im Meerschweinchendarme. Koch[3]) erreichte dann eine erfolgreiche Infection der Meerschweinchen vom Magen aus dadurch, dass er den Thieren zunächst den Mageninhalt mit Sodalösung neutralisirte (er brachte denselben 5 ccm 5proc. Sodalösung mit Hülfe der Schlundsonde[4]) in den Magen), dass er einige Zeit nachher (um die Cholerabakterien nicht unmittelbar in die Sodalösung zu bringen) 10 ccm einer Bouilloncultur von Cholerabakterien in den Magen einflösste, und

---

[1]) Cholerabakterien wurden im Hafenwasser von Marseille, ferner in einem Wasserbehälter in Montevideo, aus dem an Cholera erkrankte Soldaten ihr Wasser entnommen hatten, aufgefunden (cf. Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. p. 166). Ferner fanden Cholerabakterien: Pasquale (cf. Riforma medica. 1892. vol. I. p. 310) in Brunnenwasser in Massaua, C. Fränkel (Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 41) im Wasser des Duisburger Zollhafens, Biernacki (Deutsche med. Wochenschrift 1892. No. 42) in Brunnenwasser in Lublin, Lubarsch (Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 43) im Wasser des Kielraumes eines Elbschleppdampfers, der von Hamburg kam, Loeffler (Greifswalder med. Verein, 3. Dec. 1892. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. p. 383) in Brunnenwasser in Demmin, Koch (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 337 und 417) gelegentlich der Winterepidemien 1892/93 im Hamburger Elbwasser, in einem Brunnen in Altona und in dem Wasser innerhalb des dortigen Filterwerks, auf den Rieselfeldern der Provinzial-Irrenanstalt Nietleben bei Halle a. S., in dem Saalewasser daselbst und in dem Leitungswasser der Anstalt.

[2]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 634.

[3]) Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Zweites Jahr. 1885. Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 37 A. p. 5, 6.

[4]) Bezüglich des manuellen Vorgehens hierbei cf. oben p. 173, Anm. 6.

dass er schliesslich den Thieren — zur Herabsetzung der peristaltischen Darmbewegungen — eine kleine Quantität Opiumtinctur (1 ccm auf je 200 g Körpergewicht) in die Bauchhöhle injicirte. So behandelte Meerschweinchen gingen nach etwa 2 Tagen zu Grunde und zeigten bei der Section einen Befund, der mit dem der menschlichen Cholera übereinstimmt. Es fand sich starke Röthung des Dünndarmes; derselbe war mit wässeriger Flüssigkeit gefüllt, welche reich an Kommabacillen war. Erbrechen oder Diarrhoe zeigten die Meerschweinchen nicht, aber lähmungsartige Schwäche der Hinterextremitäten, schwache und verlangsamte Respiration, Temperaturerniedrigung, Herzschwäche — also Symptome, welche lebhaft an die menschliche Cholera erinnerten. So inficirte Thiere gehen, ebenso wie es bei dem an der natürlichen Cholerainfection sterbenden Menschen der Fall ist, an der Vergiftung durch die im Darme bei der Vermehrung der Bacillen gebildeten giftigen chemischen Körper zu Grunde (cf. p. 176).

Beim Menschen geschieht die natürliche Infection ebenfalls vom Darmkanal aus. Es ist dazu nothwendig, dass die Bacillen, die mit der Nahrung, mit Trinkwasser etc. eingeführt werden, den Magen in entwickelungsfähigem Zustande passiren. Ist der Magen nur mässig gefüllt, sein Inhalt sauer, so dürften die Bacillen die Barrière des Magens wohl selten überschreiten können.

Beim Menschen sind bereits eine Reihe von Fällen von Cholerainfection durch — theils unabsichtliche, theils absichtlich vorgenommene — Einverleibung künstlicher Reincultur der Choleravibrionen in den Verdauungskanal bekannt geworden. Der erste dieser Fälle[1]) (unabsichtliche Infection) betraf einen Arzt, welcher an einem der ersten von Koch abgehaltenen Choleracurse theilnahm. Weitere Fälle sind die von v. Pettenkofer und von Emmerich[2]), welche sich den Infectionsstoff absichtlich beibrachten. Einen vierten Fall (unabsichtliche Laboratoriumsinfection eines Laboratoriumsdieners) haben Freymuth und Lickfett[3]) publicirt. Alle diese Fälle sind in Genesung ausgegangen.

Die Incubationsdauer betrug bei den Fällen von v. Pettenkofer und Emmerich 1 bis 2 Tage. In 8 Fällen natürlicher Cholerainfection, welche Banti[4]) 1886 in Florenz beobachtete, und

---

[1]) Koch, Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Zweites Jahr. 1885. Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 37 A. p. 7.

[2]) Münchener med. Wochenschr. 1892. No. 46.

[3]) Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 19.

[4]) Lo Sperimentale 1887; siehe auch Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 841.

bei denen die Incubationsdauer mit grosser Sicherheit bestimmt werden konnte, betrug sie 36 bis 45 Stunden.

Ueber die Natur des specifischen Choleragiftes, d. h. des von den Cholerabakterien bei ihrer Vermehrung producirten giftigen Körpers, dessen Einwirkung auf den Organismus die schweren Symptome der Choleraerkrankung bedingt, ist noch wenig Sicheres bekannt. Nach den Untersuchungen von R. Pfeiffer[1]) ist dieses Gift in dem Zellleibe der Choleravibrionen selbst enthalten (cf. oben p. 42). Ganz besonders empfänglich für die Vergiftung haben sich Meerschweinchen erwiesen. Bereitet man sich von einer frischen Agarcultur sehr virulenter Choleravibrionen eine Aufschwemmung in sterilisirter Bouillon, und injicirt man diese Aufschwemmung in passender Dosis (für ein Thier von 300 bis 350 g Körpergewicht müssen etwa 1,5 mg der Agarcultur [eine kleine Platinöse voll] genommen werden) einem Meerschweinchen intraperitoneal, so treten wenige Stunden nach der Injection Vergiftungserscheinungen auf. Unter rapidem Sinken der Körpertemperatur wird das Thier schlaff und hinfällig, es liegt mit lähmungsartiger Schwäche der Hinterextremitäten platt auf dem Bauche; fibrilläre Zuckungen treten von Zeit zu Zeit auf; das Thier fühlt sich kalt an und geht meist 12 bis 16 Stunden nach der Injection, mitunter auch später, zu Grunde (R. Pfeiffer). Bei der Section findet man in der Bauchhöhle gewöhnlich geringe Mengen einer hellgelben serösen Flüssigkeit, in welcher sich (nach Untersuchungen von Gruber und Wiener[2])) die eingebrachten Choleravibrionen in der Regel stark vermehrt zeigen. Ebenso enthält auch die (mitunter vorhandene) die Injectionsstelle umgebende subcutane Oedemflüssigkeit, ferner das intramusculare Bindegewebe der Bauchwand und des Zwerchfells, endlich auch das mitunter anzutreffende pleuritische Exsudat (nach den Ermittelungen der letztgenannten Autoren) Vibrionen. Nach Pfeiffer und Wassermann[3]) findet man nur dann die intraperitoneal in den Meerschweinchenkörper injicirten Choleravibrionen vermehrt, wenn mehr als die tödtliche Minimaldosis der Cultur eingebracht wurde.

Bei derartigen Thierversuchen zeigt sich nun die Virulenz verschiedener Choleraculturen ganz ausserordentlich verschieden. Erstens scheint in diesem Punkte die Provenienz eine grosse Rolle zu spielen; und zweitens zeigen sich nach Gruber und Wiener ceteris paribus junge Culturen stets virulenter als ältere. Das letztere geht sogar so

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892.
[2]) Wien. klin. Wochenschr. 1892. No. 38; Arch. f. Hyg. Bd. 15. 1892.
[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893.

weit, dass in einer und derselben Agarcultur die Randzonen (die die relativ jüngsten Theile der Cultur repräsentiren) nachweislich virulenter sind als die mittlere Zone (welche die ältesten Theile der Cultur enthält). Die Virulenz einer künstlichen Choleracultur geht im Uebrigen stets sehr schnell zurück. Gruber und Wiener ermittelten auch, dass eine wenig wirksame Choleracultur durch Züchtung auf frischem Hühnereiweiss[1]) virulenter gemacht werden kann.

Gegen die deletäre Wirkung der intraperitonealen Einverleibung virulenter Choleracultur lassen sich Meerschweinchen dadurch schützen, dass man ihnen Choleraculturen intraperitoneal einverleibt, die durch Erhitzung geschädigt wurden (Brieger und Wassermann[2]), G. Klemperer[3])), oder dass man ihnen virulente Cultur in solcher Menge einverleibt, dass nicht der Tod, sondern nur eine vorübergehende Allgemeinerkrankung erfolgt (Wassermann[4])). Die so bewirkte Immunisirung der Meerschweinchen ist nach R. Pfeiffer und Wassermann[5]) nicht als Giftfestigung (cf. p. 188) zu betrachten, sondern als eine Erhöhung der bakterienschädigenden Eigenschaften der Körpersäfte der Thiere; eine „Giftfestigung“ der Thiere, ein Unempfänglichmachen gegen beliebige Dosen giftiger Choleracultur, ist bisher nicht gelungen.

An dem Blutserum geheilter menschlicher Cholerapatienten wies Lazarus[6]) meerschweinchenschützende Eigenschaften nach (cf. oben p. 189). Diese Eigenschaften des Blutserums treten, wie Wassermann[7]) fand, beim Menschen nicht sofort nach dem Ueberstehen der

---

[1]) Diese Ermittelung ist nicht zu indentificiren mit der früheren Angabe von Hueppe (Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 3), dass die Cholerabakterien, im Innern des Hühnereies gezüchtet, sehr energisch und schnell giftige Körper produciren; Hueppe machte für diese „Toxinbildung“ die im Ei herrschende Anaërobiose verantwortlich. Oben (p. 123, Anm. 3) haben wir bereits darauf hingewiesen, dass von einer vollständigen Anaërobiose im Hühnerei sicher keine Rede sein kann, und dass die spontan in Eiern vorkommenden Bakterien strenge Aëroben sind. Gruber und Wiener haben die oben citirte Virulenzsteigerung erhalten durch Cultivirung der Choleravibrionen auch auf dem Eiweiss in Contact mit der atmosphärischen Luft, also unter aëroben Bedingungen; sie sind der Ansicht, dass für die Virulenzsteigerung die Cultivirung auf nativem Eiweiss das Wesentliche ist.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 31.

[3]) Berl. klin. Wochenschr. 1892. No. 32.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893.

[5]) Ebenda.

[6]) Berl. klin. Wochenschr. 1892. No. 43, 44.

[7]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893.

Choleraerkrankung auf, sondern erst einige Wochen danach. Sie sind noch nach Monaten deutlich nachzuweisen.

Künstliche Cholerabacillenculturen in peptonhaltigen Nährböden zeigen eine bestimmte chemische Reaction („Cholerareaction"). Versetzt man nämlich eine derartige Cultur mit chemisch reiner Salz- oder Schwefelsäure, so nimmt sie eine leichte Rosa- bis intensive Burgunderrothfärbung an. Es bildet sich hierbei ein bestimmter Farbstoff („Choleraroth"). Die Reaction gelingt mit peptonhaltiger Fleischbrühe, in welcher die Bacillen 24 Stunden lang bei Brüttemperatur gewachsen sind; besser aber nimmt man als Nährflüssigkeit eine einfache 1 proc. wässerige Peptonlösung, welche 1 $^0/_0$ Kochsalz enthält, und die event. (durch Sodalösung) alkalisch gemacht wurde.[1]) Zur Beschleunigung der Reaction kann man die Flüssigkeit nach dem Säurezusatz etwas erhitzen. Die genannte Reaction wurde von drei verschiedenen Autoren, die unabhängig von einander arbeiteten, aufgefunden. Zuerst wurde sie mitgetheilt von Poehl[2]) (1886), dann von Bujwid[3]) (1887) und in demselben Jahre auch von Dunham.[4]) Poehl fand die Reaction an Gelatinestichculturen, Bujwid und Dunham fanden sie an Culturen auf flüssigen Nährböden. Von manchen Seiten wurde die genannte Reaction als für die Cholerabacillen specifisch hingestellt; von anderen Seiten jedoch wurden gegen die Specifität der Reaction Einwände erhoben: man behauptete, dieselbe käme auch anderen Kommabacillenarten zu, die zwar morphologisch den Cholerabacillen ähnlich sind, sonst aber nichts mit ihnen zu thun haben. Durch Salkowski[5]) ist die Frage endgültig entschieden worden. Salkowski hat den Nachweis geliefert, dass die Cholerareaction weiter nichts ist als die gewöhnliche Nitroso-Indolreaction[6]) (Indol + Salpetrige Säure = Rothfärbung). Es giebt

---

[1]) Siehe R. Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 326. — Die Thatsache, dass reine Peptonlösungen eine gute Vermehrung der Cholerabakterien gestatten, und dass solche Choleraculturen die oben genannte Reaction besser als Bouillonculturen zeigen, wurde von Dunham (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887. p. 340) ermittelt.

[2]) Ber. d. deutschen chem. Ges. 19. Jahrgang. 1886. p. 1162.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

[4]) Ebenda.

[5]) Virch. Arch. Bd. 110. 1887.

[6]) Vor der Salkowski'schen Veröffentlichung hat bereits Poehl (l. c.) angegeben, dass der bei Säurezusatz zu Choleraculturen sich bildende rothe Farbstoff ein Skatolderivat ist, und dass er von Amylalcohol aufgenommen wird. Brieger (ebenfalls vor Salkowski) isolirte (Deutsche med. Wochenschr. 1887. No. 15) das Choleraroth aus Choleraculturen. Er erkannte dasselbe (ebenda 1887. No. 22) als Indolderivat.

eine grosse Reihe von Bakterienarten, denen die Eigenthümlichkeit zukommt, aus den Eiweisskörpern des Nährbodens Indol zu produciren (cf. p. 248, Anm. 4), während anderen Bakterienarten diese Fähigkeit abgeht. Zu den indolproducirenden Arten gehört nun auch der Cholerabacillus; es gehören dazu ferner mehrere (weiterhin noch zu besprechende) Arten von Kommabacillen, nämlich der Kommabacillus von Finkler, der Kommabacillus von Deneke, der Vibrio Metschnikoff und der (kürzlich von M. Neisser im Rubner'schen Institut entdeckte [cf. weiter unten]) „Vibrio Berolinensis". Setzt man zu der Bouillon- oder Peptoncultur einer dieser Arten salpetrige Säure oder, was auf dasselbe hinauskommt, ein Gemenge von Kaliumnitrit und Schwefelsäure, so tritt Rothfärbung ein. Nun hat aber der Cholerabacillus (und der Vibrio Metschnikoff sowie der Vibrio Berolinensis theilen diese Eigenschaft) die fernere Eigenthümlichkeit, die geringen Mengen von Nitraten, welche sich in dem Nährboden stets vorfinden, zu Nitriten zu reduciren [1]), während dem Finkler'schen und dem Deneke'schen Kommabacillus diese Eigenschaft abgeht. In Choleraculturen, in Culturen des Vibrio Metschnikoff und in Culturen des Vibrio Berolinensis sind also stets Indol und Nitrite vorhanden. Wird nun reine Salz- oder Schwefelsäure zugesetzt, so wird salpetrige Säure frei, welche die characteristische Indolreaction veranlasst, während bei den Finkler'schen und den Deneke'schen [2]) Kommabacillen bei dem Zusatz reiner (salpetrigsäurefreier) Mineralsäuren die genannte Reaction selbstverständlich ausbleiben muss.

Die Bedingungen, unter welchen die Nitrosoindolreaction in Peptonlösungen am besten zu Stande kommt, sind jüngst von Bleisch [3]) zum Gegenstande einer besonderen Untersuchung gemacht worden. Nach Bleisch gehört ein bestimmter Gehalt der Peptonlösung an Nitraten dazu; schon ein geringer Ueberschuss von Nitraten verhindert die Reaction. [4])

Die Nitrosoindolreaction lässt sich übrigens nicht nur an Culturen in flüssigen Nährböden, sondern auch an solchen auf festen Nähr-

---

[1]) cf. Petri, Centralbl. f. Bakt. Bd. 5. 1889. No. 17—18.

[2]) Was den Vibrio Deneke angeht, so habe ich gelegentlich auch bei ihm (und zwar an alten Culturen) Rothfärbung bei Zusatz reiner Schwefelsäure gesehen.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893.

[4]) Im Handel kommen ganz verschiedene Peptonsorten vor. Ist man im Besitze eines absolut nitratfreien Peptons, so beträgt nach Bleisch (l. c. p. 112, 114) der zweckmässigste Zusatz auf je 100 ccm der 1 proc. Lösung dieses Peptons 30 bis 50 Tropfen einer 0,08 proc. Lösung reinen Kaliumnitrats. Durch Ausprobiren hat man jedesmal festzustellen, ob die gerade vorliegende Peptonsorte den zweckentsprechenden Nitratgehalt besitzt.

böden anstellen. Ausgezeichnet eignen sich dazu Oberflächenstrichculturen auf Agar. Man setzt zu der entwickelten Cultur sehr verdünnte reine Schwefel- oder Salzsäure, und zwar so viel, dass die Oberfläche des Nährbodens völlig davon bedeckt wird, und sieht dann im Falle des positiven Resultates nicht allein die Bakterienmasse sich rosa bis roth färben, sondern auch die angrenzenden Theile des Nährbodens eine derartige Farbe annehmen.

Der Cholerabacillus färbt sich mit wässerigen Anilinfarbstofflösungen. Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färbt sich der Cholerabacillus nicht.

Die genaue Kenntniss der in Vorstehendem dargestellten morphologischen und biologischen Eigenschaften des Choleravibrio ermöglicht es nun, in verdächtigen Krankheitsfällen (z. B. ersten Fällen einer Epidemie) seine Anwesenheit oder Abwesenheit festzustellen und damit darzuthun, dass es sich um Cholera asiatica handelt, resp. dass es sich nicht darum handelt. Denn der Cholerabacillus findet sich constant und ausschliesslich bei Cholera asiatica; die Diagnose dieser Krankheit steht und fällt mit seinem Nachweise.

Die in der heissen Jahreszeit nicht selten auftretenden Fälle von sogenannter „Cholera nostras" (Brechdurchfall), die mitunter nach kurzem Verlaufe tödtlich enden, können der Cholera asiatica klinisch und pathologisch-anatomisch völlig gleichen, die Ausleerungen eines solchen Falles können denjenigen echter Cholerafälle makroskopisch und mikroskopisch völlig identisch sein — nur der bakteriologische Befund ist ein anderer: in dem „Cholera nostras"-Falle findet sich irgendwelche specifische Mikroorganismenart nicht; in dem Falle von Cholera asiatica findet sich der Koch'sche Vibrio. Bei der sogenannten „Cholera nostras" handelt es sich nach Allem, was wir bisher darüber wissen, jedenfalls nicht um eine specifische Ursache; die schweren Darmläsionen (Desquamation des Epithels [Flocken der Reiswasserstühle]), welche wir bei „Cholera nostras" in genau derselben Weise finden können wie bei der echten Cholera asiatica, sind ohne Zweifel genau so auf Schädigungen durch giftige Körper zu beziehen, wie das bei der Cholera asiatica der Fall ist. Während aber bei der letzteren Krankheit das Gift ein specifisches ist, gebildet bei der Vermehrung einer bestimmten, specifischen Mikroorganismenart innerhalb des Körpers, so sind die bei der „Cholera nostras" in Betracht kommenden Gifte wahrscheinlich in verschiedenen Fällen verschieden, und es ist auch durchaus noch nicht ausgemacht,

dass diese Gifte in allen Fällen durch Mikroorganismen gebildet werden, und, wo das letztere der Fall, dass sie innerhalb des von der Krankheit befallenen Körpers producirt werden. Es ist ein gewaltiger Unterschied bezüglich der im Interesse des Allgemeinwohls zu ergreifenden hygienischen Massregeln, ob der vorliegende unter verdächtigen Erscheinungen acut zu Grunde gegangene Fall Cholera asiatica oder „Cholera nostras" ist: Im Falle der Cholera asiatica ist eine Krankkeitsursache vorhanden, die die Fähigkeit hat sich ausserhalb und innerhalb des menschlichen Körpers zu vermehren und so die Krankheit zu reproduciren; im Falle der „Cholera nostras" handelt es sich um Schädlichkeiten, die nach Allem, was wir darüber wissen, die Fähigkeit der Vermehrung und der Reproduction nicht besitzen.

Wie gestaltet sich nun das praktische Vorgehen bei der bakteriologischen Untersuchung eines verdächtigen Falles? Obenan ist hier stets die Forderung zu stellen, dass das Material so frisch wie nur irgend möglich untersucht wird, dass es in möglichst originalem Zustande, möglichst in dem Zustande, in welchem es im Körper des Erkrankten vorhanden war, zur Prüfung herangezogen wird. Handelt es sich um einen verdächtigen Todesfall, so muss die Section so bald wie möglich nach dem Tode vorgenommen werden, damit der Dünndarminhalt zur Untersuchung entnommen werden kann; handelt es sich um einen lebenden Kranken, so müssen die Dejectionen möglichst bald nach der Entleerung aus dem Körper untersucht werden. Die Forderung, das Material in jedem Falle möglichst frisch, möglichst original zu untersuchen, ist deshalb von so ausserordentlicher Bedeutung, weil der von dem Kranken entleerte resp. nach dem Tode in der Leiche stagnirende Darminhalt, je mehr Zeit verfliesst, desto mehr Veränderungen erleidet; es tritt Vermehrung der einen, Absterben der anderen Mikroorganismen ein, und es ist durchaus nicht unmöglich, dass die heute in dem Material vorhandenen und mit Leichtigkeit nachweisbaren Cholerabakterien morgen oder gar übermorgen nicht mehr vorhanden und also auch nicht mehr nachweisbar sind. Besonders bei Sommertemperatur treten solche Verschiebungen der bakteriologischen Beschaffenheit des Materiales sehr leicht und schnell ein. Lässt es sich nicht ermöglichen, die bakteriologische Prüfung desselben sofort in Angriff zu nehmen, muss es z. B. zur Untersuchung erst an ein mehr oder weniger entferntes Institut verschickt werden, so ist das Material (Dejection des Kranken resp. doppelt unterbundene Dünndarmstücke der Leiche) — selbstverständlich ohne Zusatz von Desinfectionsmitteln — in gut verschliessbare Glasgefässe

zu füllen, und die letzteren sind, am besten in Eis verpackt, auf dem kürzesten Wege an den Bestimmungsort zu befördern. Da es auch in diesem Falle vorkommen kann, dass das Material sich in der oben angedeuteten Weise verändert, so würde ich stets rathen, dass der zu dem Falle zugezogene Arzt neben der Sorge um möglichst schnelle und zweckmässige Expedirung des Materials noch die Herstellung einer Reihe von Ausstrichpräparaten aus demselben übernimmt. Diese Präparate werden mit dem übrigen Materiale zugleich an die Untersuchungsstelle eingesandt, um dort mikroskopisch geprüft zu werden. Es handelt sich hier nicht etwa um die Herstellung fertiger mikroskopischer Präparate von Seiten des mit Berufsgeschäften ohnehin überhäuften Arztes, sondern nur um die Fixirung des momentan noch unverändert vorliegenden Krankheitsmateriales auf einer Glasfläche zum Zwecke der dauernden Festlegung in diesem originalen Zustande. Mit irgend einem passenden Metallinstrument, z. B. einer kleinen Pincette (die nach dem Gebrauch durch Ausglühen desinficirt wird) oder Aehnlichem, wird aus dem verdächtigen Material eine Schleimflocke entnommen und auf eine durch Abwaschen etc. gut gesäuberte, trockene Glasfläche (im Nothfalle genügt ein Stück Fensterglas etc.) so unter Aufdrücken ausgestrichen, dass Schleim- etc. Theilchen in dünner Schicht an der Glasfläche hängen bleiben. Man lässt die Schicht, ohne weiter (durch Kratzen etc.) an ihr zu manipuliren, lufttrocken werden und legt dann die so vorbereiteten Glasstückchen, in reines Schreibpapier einzeln eingeschlagen, dem abzusendenden Untersuchungsmateriale bei. Sind mikroskopische Deckgläser zur Stelle, so wird man natürlich diese für den genannten Zweck gebrauchen.

Die auf die angegebene Weise — von frischem, originalem Material — hergestellten Ausstrichpräparate sind von gar nicht hoch genug anzuschlagendem Werthe. In einer solchen angetrockneten Schicht bleibt die Morphologie des aufgestrichenen Materiales dauernd völlig unverändert; und dem Untersucher, welcher nachher diese Präparate in der gewöhnlichen Weise des Trockenpräparates mit Anilinfarben färbt und mikroskopisch untersucht, ist damit wenigstens ein Einblick in die originalen morphologischen Verhältnisse ermöglicht und gesichert, wenn auch in dem flüssigen Untersuchungsmateriale solche Veränderungen vor sich gegangen sein sollten, dass ein sicheres Urtheil allein nach der (mikroskopischen und Cultur-) Untersuchung des letzteren sehr schwer oder auch gar nicht möglich ist.

Die mikroskopische Untersuchung des frischen

Materiales kann in positiven Fällen die Diagnose der Cholera asiatica ohne Weiteres entscheiden. Das ist nicht etwa so zu verstehen, dass, wenn man verdächtiges Material im frischen Zustande mikroskopisch untersucht, der Befund von kommaförmig gekrümmten Organismen ohne Weiteres zur Diagnose „Cholera" berechtigte. Vereinzelte kommaförmig gekrümmte Bacillen kann man in jeder beliebigen Fäcesprobe antreffen. Zur mikroskopischen Diagnose „Cholera" gehört vielmehr stets der Nachweis, dass Kommabacillen in sehr grossen Mengen, in das ganze Bild beherrschender Anzahl vorhanden sind. Ein derartiger Befund ist bisher bei keiner anderen Krankheit und ebensowenig beim normalen Menschen gemacht worden: er ist für Cholera asiatica characteristisch. Auch finden sich die Vibrionen, wie das Koch bereits 1884 beschrieben und abgebildet[1]) und neuerdings wieder in Erinnerung gebracht[2]) hat, in den bei der Präparation fadenförmig ausgezogenen Stellen des Schleims häufig in characteristisch geformten Gruppen liegend: „Sie bilden nämlich Häufchen, in denen die einzelnen Bacillen sämmtlich dieselbe Richtung haben, so dass es so aussieht, als wenn ein kleiner Schwarm derselben, wie etwa Fische in einem langsam fliessenden Gewässer, hinter einander herziehen." Dieses Bild im Besonderen ist für Cholera asiatica durchaus characteristisch. Es sei aber nochmals betont, dass diese Sicherheit der mikroskopischen Choleradiagnose ausschliesslich für die Untersuchung des absolut frischen, originalen Materials gilt, und dass sie nur gilt für den positiven, zweifellosen Befund. Wird das Material nicht frisch untersucht, oder trifft man bei frischem Material die Vibrionen nicht in überwiegender Anzahl oder auch gar nicht an, so ist aus solchem Befunde nie ein Urtheil zu ziehen. Hier sind wir bezüglich des letzteren ausschliesslich auf die Culturuntersuchung angewiesen. So viel ist aber sicher, dass ein gutes, von dem frischen Materiale hergestelltes mikroskopisches Präparat unter Umständen die Diagnose ermöglichen kann, wo sie aus den veränderten und verdorbenen Dejectionen nicht mehr zu stellen ist.

Selbstverständlich wird, wo dies irgend angängig ist, die mikroskopische Untersuchung durch die Culturuntersuchung ergänzt.

Es ist an dieser Stelle zu erwähnen, dass sich in manchen Fällen von „Cholera nostras" in den Dejectionen mikroskopisch ziemlich grosse, mit mehreren Windungen versehene, spirillenförmige, aber hier und da auch Kommaform zeigende Gebilde vorfinden. Diese Gebilde, welche

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 32. p. 501.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 324.

zuerst (1887) von V. Babes [1]) beschrieben wurden und auch im Sommer des Jahres 1892 bei Gelegenheit der Untersuchung choleraverdächtiger Fälle wiedergefunden worden sind [2]), sind schon nach ihrer Form nicht mit Cholerabakterien zu verwechseln: die Cholerabakterien sind plumper, kürzer und dicker als die fraglichen Gebilde; die letzteren haben ausserdem zugespitzte Enden, während die Enden der Cholerabakterien stumpf abgerundet sind. Die Herstammung dieser Spirillen und die Rolle, welche ihnen in manchen Fällen von „Cholera nostras" eventuell zukommt, ist noch völlig zweifelhaft; übrigens lassen sich diese Spirillen künstlich nicht züchten.

Behufs der Culturuntersuchung verdächtigen Materials geht man so vor, dass man von den Dejectionen oder von dem Darminhalt der Leiche, und zwar am besten von einer Schleimflocke, in bekannter Weise Gelatineplatten anlegt (cf. oben p. 124ff.). Zu diesem Zwecke zerreibt und vertheilt man das Material in einem Röhrchen geschmolzener Nährgelatine (passender Beschaffenheit; cf. oben p. 269), legt Verdünnungen an und giesst die so inficirte Gelatine auf Platten, in Schälchen etc. aus. Die Platten (oder Schälchen etc.) sollen bei 22° C. aufbewahrt werden. Bei dieser Temperatur sind die aus den event. vorhandenen Cholerabakterien entstehenden Colonien in 24 Stunden so weit gediehen, dass sie eine sichere Beurtheilung gestatten. Entwickelte Platten von Choleradejectionen bieten nun schon makroskopisch ein von anderen Fäcesplatten differentes Bild. Während nämlich auf Fäcesplatten im Allgemeinen — im Gegensatz zu der enormen Anzahl der mikroskopisch in dem Aussaatmaterial nachweisbaren Bakterien — gewöhnlich nur relativ spärliche Colonien bei Zimmertemperatur zur Entwickelung gelangen, so findet man Platten von Choleradejectionen gewöhnlich mit Colonien übersäet, deren grösste Mehrzahl dem Cholerabacillus angehört: Der Cholerabacillus unterscheidet sich von der Mehrzahl der sonst in Fäces vorkommenden Bakterien schon dadurch, dass er auf der Gelatineplatte gut zur Auskeimung gelangt. Findet man nun bei der Untersuchung der Platte mit schwacher Vergrösserung die den Choleracolonien zukommenden Merkmale (cf. p. 269), und constatirt man bei der Abimpfung der fraglichen Colonien und Untersuchung des Abgeimpften mit starker Vergrösserung, dass die Colonien aus kommaförmigen Organismen bestehen, so ist die Diagnose „Cholera asiatica" sichergestellt.

---

[1]) 6. internat. Congr. f. Hyg. u. Demogr. Wien 1887. Verhandlungen Heft 18. p. 80 und 118, 119.

[2]) cf. Fürbringer, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 34. p. 768.

Es muss an dieser Stelle betont werden, dass diese sichere Diagnose aus dem Plattenbefunde nur dann möglich ist, wenn — was wir voraussetzten — die Platte mit solchem Material angelegt ist, welches unmittelbar von dem erkrankten Menschen stammt. Im unmittelbaren Zusammenhange mit dem Krankheitsfalle ist ein derartiger Plattenbefund für Cholera asiatica durchaus specifisch; er ist sonst nirgends erhoben worden. Auf der anderen Seite ist der blosse Plattenbefund ohne das Kriterium des Zusammenhanges mit dem Krankheitsfalle — z. B. der Befund einer mit choleraverdächtigem Trinkwasser angelegten Platte — wenn die vorhandenen Colonien auch noch so grosse Aehnlichkeit mit Choleracolonien haben, für die Diagnosticirung des Cholerabacillus nicht ohne Weiteres zu verwerthen. Selbst wenn die verdächtigen Colonien aus kommaförmigen Bakterien zusammengesetzt sind, ist die sichere Beurtheilung nicht ohne Weiteres möglich; denn wir kennen von dem Cholerabacillus differente Kommabacillenarten, deren Plattencolonien in gewissen Entwickelungsstadien genau so aussehen wie die Colonien des Choleravibrio; wir wissen auch, dass derartige Kommabacillenarten im Wasser vorkommen können. Auf der andern Seite aber wissen wir mit Sicherheit, dass im menschlichen Darme vorkommende Kommabacillen, die zur Entstehung choleraähnlicher Colonien auf der Platte Veranlassung geben, nur Choleravibrionen sein können.[1])

Neuerdings hat Koch[2]) neben der Gelatineplattencultur auch die Agarplattencultur zur Choleradiagnose empfohlen. Man lässt das geschmolzene, in Doppelschalen ausgegossene sterile Agar zunächst erstarren und dann (zum Zwecke der Verdunstung der ausgepressten oberflächlichen Flüssigkeitsschicht) mehrere Tage im Brütschrank stehen. Auf die Oberfläche des so vorbereiteten Nährbodens breitet man das zu untersuchende Material mit einer Platinöse aus. Bei 37° C. entstehen dann aus Cholerabakterien schon nach 8—10 Stunden relativ grosse Colonien, die allerdings in ihrem Aussehen nicht sehr characteristisch sind (cf. oben p. 271). Die Colonien muss man dann abimpfen und auf kommaförmige Organismen untersuchen. Findet man Kommabacillen, und stammte das Material unmittelbar von dem erkrankten Menschen, so kann es sich nur um Choleravibrionen handeln. — Die Agarplattencultur kann zur Beschleunigung der Diagnosestellung verwandt werden. In jedem Falle wird man sich auf sie allein — bei dem wenig characteristischen Aussehen der Colonien und

---

[1]) Vergl. bezüglich der vorhergehenden Auseinandersetzung die oben (p. 169, Anm. 1) gegebenen Ausführungen.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 330.

bei den vorkommenden Schwankungen in der Form der Einzelzellen des Choleravibrio (cf. p. 268) — nicht verlassen, sondern daneben stets auch Gelatineplatten anlegen, welche ein viel sichereres, wenn auch nicht so schnell zu erhebendes, Urtheil gestatten.

Zur weiteren, wenn nicht Sicherung, so doch Bestätigung der Diagnose kann neben der Gelatine- und der Agarplattencultur auch die (mit hergestellten Reinculturen, am besten in Peptonlösung [cf. oben p. 277], anzustellende) Nitrosoindolreaction sowie der Thierversuch (intraperitoneale Injection von Reinculturen bei Meerschweinchen [cf. oben p. 275]) ausgeführt werden.

Alle diese Kriterien, das mikroskopische Bild, die Gelatine-, die Agarplatte, die Indolreaction und der Thierversuch, geben — wenn das Material wirklich von einem Cholerafalle stammt und frisch zur Untersuchung kommt — gewöhnlich übereinstimmende Resultate. Das Resultat der mikroskopischen Untersuchung kann (siehe oben p. 282) mitunter zweifelhaft sein, während die übrigen diagnostischen Hülfsmittel ein völlig sicheres, übereinstimmendes, unzweideutiges Resultat ergeben.

Steht das zu untersuchende Material nicht in unmittelbarem Zusammenhange mit einem verdächtigen Krankheitsfalle, liegen z. B. Dejectionen vor, die schon eine Reihe von Tagen bei Sommertemperatur gestanden haben und verfault sind, oder hat man ein des Cholerabacillengehaltes verdächtiges Trinkwasser zu untersuchen etc., so gestaltet sich die Diagnose nicht ganz so einfach wie bei frischem, vom Kranken oder von der Leiche stammenden Material (cf. oben p. 169, Anm. 1). Hat man in solchen Fällen kommaförmige Organismen aufgefunden, so muss man sie nach allen Richtungen hin, d. h. durch Züchtung auf den verschiedensten Nährböden und bei verschiedenen Temperaturen, durch Anstellung der Indolreaction und des Thierversuches mit echten, authentischen Cholerabacillen vergleichen und kann dann event. das Urtheil abgeben, dass der aufgefundene Organismus sich mit den heutigen Hülfsmitteln in keiner Beziehung von dem Choleravibrio unterscheiden lässt. Auf den Ausfall des Thierversuchs wird man in solchen Fällen, bei der schwankenden Virulenz des Choleravibrio (cf. p. 275), nicht allzu grosses Gewicht zu legen haben.

Um in solchen Fällen, wo in den verdächtigen Dejectionen nur wenige oder gar keine Kommaformen mikroskopisch auffindbar sind, die event. vorhandenen Cholerabakterien dennoch der mikroskopischen Beobachtung und weiteren Untersuchung zugängig zu machen, hat Schottelius[1]) folgendes Verfahren empfohlen: 100 bis 200 ccm

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 14.

der verdächtigen Dejectionen werden mit 250 bis 500 ccm Nährbouillon innig vermischt; das Gemisch bleibt 10 bis 12 Stunden in offenem Gefässe bei Brüttemperatur stehen. Die event. vorhandenen (sauerstoffbedürftigen [cf. p. 269]) Cholerabakterien sollen sich währenddessen an die mit der atmosphärischen Luft in Contact stehende Oberfläche der Flüssigkeit begeben und sich hier vermehren, so dass man nach Ablauf der obengenannten Zeit durch mikroskopische Untersuchung einer Spur der oberflächlichen Schicht der Flüssigkeit ihre Gegenwart nachweisen kann. Buchner[1]) hat ein ähnliches Verfahren der „Vorcultur", welches ebenso wie das Schottelius'sche eine relative Vermehrung der vorhandenen Cholerabakterien anderen Mikroorganismen gegenüber bezweckt, angegeben: Er sterilisirt eine 7 Tage im Brütschrank gewachsene Bouillon- oder Peptoncultur des Choleravibrio durch Kochen und verdünnt sie dann mit dem 10 fachen Volumen 0,6 proc. Kochsalzlösung. Der so erhaltene flüssige Nährboden ist für die Cholerabakterien nach Buchner viel günstiger als für andere Organismen. Bringt man kleine Quantitäten des zu untersuchenden Materials in diesen Nährboden hinein, so sammeln sich etwa vorhandene Cholerabakterien an der Oberfläche der Flüssigkeit an, vermehren sich hier und bilden ein Häutchen, welches die Cholerabakterien event. in Reincultur enthalten kann. An die genannten Methoden der Vorcultur von Schottelius und von Buchner lehnen sich Verfahrungsweisen an, welche Gruber[2]), Bujwid[3]) und Andere angegeben haben. Koch[4]) hat kürzlich empfohlen, eine relative Vermehrung der Cholerabakterien in dem zu untersuchenden Materiale dadurch herbeizuführen, dass man in die oben (p. 277) angegebene Pepton-Kochsalzlösung, die sich im Reagenzglase befindet, eine oder mehrere Platinösen der zu untersuchenden Dejection oder einige Schleimflocken aus derselben einbringt und dann die Cultur in den Brütschrank (37 ° C.) stellt. Die event. vorhandenen Cholerabakterien vermehren sich in diesem ihnen ausserordentlich zusagenden (p. 277, Anm. 1.) Nährboden sehr schnell und bilden oft schon nach 6 Stunden an der Oberfläche der Flüssigkeit ein zusammenhängendes Häutchen, welches dann mikroskopisch und durch Plattencultur weiter untersucht wird. — Selbstverständlich wird man bei Benutzung solcher Vorculturmethoden, solcher Methoden, die den Zweck haben, das Untersuchungsmaterial an Choleravibrionen „anzureichern", niemals versäumen dürfen, gleichzeitig mit der Vorcultur

---

[1]) Münch. ärztl. Intell.-Bl. 1885. No. 50.

[2]) Wiener med. Wochenschr. 1887. No. 7, S.

[3]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 4. 1888. No. 16. p. 494.

[4]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 326 ff.

Plattenculturen anzulegen; denn es ist nie mit Sicherheit auszuschliessen, dass in dem Untersuchungsmateriale eine anderweitige Bakterienart vorhanden ist, die ein ähnliches Sauerstoffbedürfniss besitzt wie der Choleravibrio, und die vermöge ihrer Eigenbeweglichkeit ebenfalls an die Oberfläche der Flüssigkeit steigt und dort sogar den Choleravibrio verdrängt. Natürlich wird diese Möglichkeit der Verdrängung und Ueberwucherung des Cholerabacillus durch eine andere Bakterienart eine verschiedene sein müssen je nach der Zeitdauer, während der das Gemisch der Brüttemperatur ausgesetzt wurde. Koch[1]) giebt ausdrücklich an, dass die Untersuchung der Pepton-Vorcultur am besten 6 bis 12 Stunden nach der Aussaat vorgenommen wird, dass später die Cholerabakterien auch in den oberflächlichen Flüssigkeitsschichten gewöhnlich von anderen Bakterien überwuchert und verdrängt werden, so dass also der Fall eintreten kann, dass sie bei einer zu späten Untersuchung nicht mehr gefunden werden. Jedenfalls aber ist die Möglichkeit der Ueberwucherung auch in den ersten Stunden der Vorcultur im einzelnen Falle a priori nie von der Hand zu weisen, und ein bei der Vorcultur sich ergebendes negatives Resultat würde daher stets mit Vorsicht zu verwerthen sein. Durch gleichzeitige Anlegung von Plattenculturen aus dem Untersuchungsmaterial (die übrigens Koch bei Gelegenheit der Empfehlung der Pepton-Vorcultur für die Untersuchung von Dejectionen in erster Reihe vorschreibt) sichert man sich jedenfalls stets die Uebersicht über die ursprünglich vorhandenen Verhältnisse.

Es muss übrigens darauf hingewiesen werden, dass nicht in jedem Cholerafalle die Koch'schen Vibrionen in jeder einzelnen Portion der Dejectionen vorhanden sind. Sie können gelegentlich während ganzer Tage aus den Dejectionen verschwinden, um dann wieder aufzutreten. Aus einer einzelnen Untersuchung mit negativem Ergebniss ist also ein bindender Schluss nicht ohne Weiteres gestattet[2]). Im Durchschnitt sind die Cholerabakterien bis zum 10. Tage nach der Erkrankung im Darminhalt anzutreffen[3]). Bei Gelegenheit der Choleraepidemien 1892/93 sind die Cholerabakterien gelegentlich auch in den Dejectionen scheinbar gesunder resp. nicht mit allgemeinen Störungen erkrankter Personen, ja selbst im festen geformten Stuhl, aufgefunden worden[4]). Diese leichtesten Cholerafälle sind nur unter Gruppen von Menschen beobachtet,

---

[1]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 327.

[2]) Vergl. Rumpel, Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 7.

[3]) Vergl. Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 157.

[4]) Vergl. Canon, Lazarus und Pielicke, Berl. klin. Wochenschr. 1892. No. 48. p. 1216; Rumpel, Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 7.

welche gleichmässig der Cholerainfection ausgesetzt waren und neben den leichten auch schwere Fälle aufwiesen[1]). Sie bedeuten weiter nichts, als dass die individuelle Disposition des Menschen für die Cholera-infection eine sehr verschiedene ist[2]).

Behufs der Untersuchung von verdächtigem Wasser auf event. vorhandene Cholerabakterien ging man früher ausschliesslich so vor, dass man eine geringe Quantität des zu untersuchenden Wassers mit geschmolzener Nährgelatine vermischte, das Gemisch zur Platte aus-goss und dann unter den aufgehenden Colonien auf choleracolonien-ähnlich aussehende fahndete. Findet man bei dieser Gelegenheit der-artige Colonien, so werden sie abgeimpft, ihr Inhalt wird auf Komma-bacillen geprüft, und, falls sich Kommabacillen finden, wird das Material auf seine sonstigen Cultur- etc. Eigenschaften hin (am besten unter ständiger Vergleichung mit authentischen Choleravibrionen) untersucht, um dann event. (mit mehr oder weniger grosser Sicherheit resp. Wahr-scheinlichkeit) als mit Cholera identisch oder als von Cholera different erkannt zu werden[3]). Mit Hülfe dieser Gelatineplattenmethode hat

---

[1]) cf. Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 321.

[2]) cf. Flügge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 158.

[3]) Die Prüfung auf die eventuelle Choleranatur der bei solcher Gelegenheit gefundenen Kommabacillen hat mit der allergrössten Sorgfalt und unter Berück-sichtigung sämmtlicher Kriterien der Artbestimmung zu geschehen; die Wasser-untersuchungen, die gelegentlich der Choleraepidemie 1892 von vielen Seiten aus-geführt wurden, haben gezeigt, dass im Wasser ganz regelmässig Kommabacillenarten vorkommen, die in der Form der Plattencolonie, wenn auch unter Umständen nur in gewissen Entwickelungsstadien, mit Cholera grössere oder geringere Aehnlich-keit aufweisen. Hierhin gehört z. B. der von mir in Spreewasser aufgefundene „Vibrio aquatilis“ (Deutsche Ges. f. öff. Ges.-Pfl., Sitzung v. 28. Nov. 1892. — Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 49. p. 1124), der zugleich den — meines Wissens — erstpublicirten derartigen, aus Anlass der 1892er Epidemie erhobenen Befund darstellt. Ein Ausstrichpräparat dieses Mikroorganismus ist auf Taf. X, Fig. 60, wiedergegeben. Der Vibrio aquatilis ist von dem Choleravibrio in den ersten Tagen des Wachsthums auf der Gelatineplatte durch die Colonienform mit Leichtig-keit und Sicherheit zu unterscheiden: er bildet kreisrunde, glattrandige, feingranu-lirte Colonien. Erst in einem späteren Stadium der Entwickelung, bei fortschreiten-der Verflüssigung, tritt eine entfernte Aehnlichkeit der Colonien mit Cholera auf. Der Vibrio aquatilis unterscheidet sich ferner von dem Choleravibrio vor Allem durch den negativen Ausfall der Nitrosoindolreaction (cf. p. 277) und durch den Mangel pathogener Eigenschaften.

Andere Befunde von Kommabacillen im Wasser, die bei Gelegenheit der 1892er Choleraepidemie gemacht wurden, sind die von Kiessling (Discussion im Anschlusse an meinen oben citirten Vortrag über den Vibrio aquatilis. — Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 8. 1893), Loeffler (Greifswalder med. Verein 3. Dec. 1892. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. p. 384), Weibel (Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. 1893. No. 4), Buj-wid (ebenda), Fokker (Deutsche med. Wochenschr. 1893. No. 7); vergl. in dieser

z. B. Koch (cf. oben p. 155, 272) 1884 in dem Wasser eines Tank in der Nähe von Calcutta Cholerabakterien nachgewiesen, und auch in einigen späteren Fällen ist der Nachweis von Cholerabakterien im Wasser auf diese Weise gelungen.

Im Allgemeinen aber hat, wie wir bereits oben (p. 156) auseinandersetzten, die Feststellung vereinzelter Choleracolonien auf der Gelatineplatte neben einer grossen Ueberzahl anderer Colonien — die sich auf Wasserplatten stets entwickeln — ihre sehr grossen Schwierigkeiten: und es ist deshalb ohne Weiteres verständlich, dass die genannte Methode nur in sehr wenigen Fällen ein positives Resultat gezeitigt hat. Man hat deshalb nach Verbesserungen der Methode gesucht, und es sind in neuerer Zeit derartige Verbesserungen mehrfach angegeben und von autoritativen Stellen empfohlen worden. Wir sagten bereits oben (p. 157), dass die Verbesserungen darauf beruhen, dass man dem zu untersuchenden Wasser zunächst bestimmte für das Wachsthum der Cholerabakterien günstige Zusätze giebt, und dass man das Gemisch dann eine gewisse Zeit bei einer für die Cholerabakterien sehr günstigen, für die Wasserbakterien weniger günstigen Temperatur stehen lässt. Man sucht dadurch — in ähnlicher Weise, wie es die (cf. oben p. 285 ff.) von Schottelius und Anderen angegebenen, in modificirter Weise jüngst auch von Koch empfohlenen „Anreicherungs"-Methoden bei der Untersuchung von Dejectionen bezwecken — eine relative Vermehrung der event. vorhandenen Cholera-

---

Beziehung auch Koch (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 338). Bei allen diesen Befunden, die übrigens nicht sämmtlich mit Hülfe der Gelatineplattencultur, sondern z. Th. mit der oben im Text weiterhin noch anzuführenden Vorcultur-Methode erhoben wurden, handelt es sich um Vibrionen, bei denen die Indolreaction negativ ausfällt, und die keine pathogenen Eigenschaften besitzen. Dass trotzdem ein solcher Befund zu ernsten Verwechselungen mit Cholera Veranlassung gegeben hat, zeigt der Fall von Kiessling (l. c.), in welchem mit grosser Wahrscheinlichkeit der von mir aufgefundene Vibrio aquatilis vorlag. Vergl. hierüber Kiessling (Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 8. 1893. p. 432, Anm.), ferner Wallichs, Kreisphysikus in Altona (Deutsche med. Wochenschr. 1892. p. 1050 links unten).

Ein Kommabacillenbefund in Wasser („Spirillum marinum", Golf von Neapel) ist ferner der von Russell (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1891. p. 198); dieser Mikroorganismus zeigte ein sehr kräftiges Wachsthum auf Kartoffeln und gedieh bei Brüttemperatur nicht.

Viel grössere Aehnlichkeit mit dem Choleravibrio, als allen den vorstehend citirten Befunden zukommt, hat der bereits oben (p. 278) erwähnte, neuerdings von M. Neisser in Rubner's Institut im Wasser aufgefundene „Vibrio Berolinensis". Dieser Organismus ist durch den positiven Ausfall der Indolreaction und durch eine hohe Pathogenität für Meerschweinchen ausgezeichnet; mit Leichtigkeit und Sicherheit aber lässt er sich durch die Form der Plattencolonie von dem Choleravibrio unterscheiden (cf. die ausführliche Schilderung p. 293).

bakterien anderen Bakterien gegenüber zu erzielen. In der resultirenden, im Vergleich zu dem ursprünglichen Wasser an Cholerabakterien so viel reicheren Flüssigkeit müssen die letzteren selbstverständlich viel leichter nachweisbar sein als in dem ursprünglichen, an Cholerabakterien armen Wasser.

Eine derartige Methode wurde meines Wissens zuerst von Pasquale (cf. p. 273, Anm. 1) zur Auffindung der Cholerabakterien im Wasser benutzt. Dann hat Heim[1]) ein derartiges Verfahren empfohlen (Zusatz von 2 % Pepton und 1 % Kochsalz zu dem zu untersuchenden Wasser und folgender Aufenthalt im Brütschrank), ferner Loeffler[2]) (200 ccm des Wassers werden mit 10 ccm alkalischer Peptonbouillon versetzt; das Gemisch wird 24 Stunden im Brütschrank gehalten, und es werden dann von der oberflächlichen Flüssigkeitsschicht Platten angelegt); ähnlich ist auch das Verfahren von Arens.[3]) Flügge[4]) empfiehlt zu 100 ccm des zu untersuchenden Wassers so viel concentrirtes alkalisches Peptonwasser zuzusetzen, dass eine 1 proc. Peptonlösung entsteht; die Mischung wird 10 Stunden bei 37° C. gehalten, und dann werden von der Oberfläche der Flüssigkeit Proben zu Gelatineplatten verarbeitet oder auf Agar gebracht. Koch[5]) setzt dem Wasser 1 % Pepton und 1 % Kochsalz zu, hält die Mischung dann bei 37° C. Nach 10, 15, 20 Stunden wird die Oberfläche auf Cholerabakterien weiter untersucht.

Wenn man derartige Methoden anwendet, so wird man es sich stets gegenwärtig halten müssen, dass — ebenso, wie wir es oben (p. 286, 287) für die entsprechende Behandlung zu untersuchender Dejectionen entwickelt haben — es nie a priori ausgemacht ist, dass nicht in dem zu untersuchenden Wasser Bakterien vorhanden sind, welche bei der geschilderten Behandlung eine ähnliche Vermehrung erfahren wie die Cholerabakterien, die dabei event. sogar noch günstigere Bedingungen finden als die Cholerabakterien und die letzteren überwuchern und unterdrücken. Es ist deshalb stets erforderlich, neben der Vorcultur Plattenculturen von dem ursprünglichen Wasser anzustellen, welche allein eine Uebersicht über die originalen Verhältnisse gestatten.

---

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 353 ff.
2) Greifswalder med. Verein. 3. Dec. 1892. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. p. 384.
3) Münch. med. Wochenschr. 1893. No. 10.
4) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 167.
5) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 336.

16. Der Vibrio Metschnikoff.

Im Jahre 1888 publicirte Gamaleïa[1]) Untersuchungen über eine in Odessa im Sommer epizootisch vorkommende, äusserlich der Hühnercholera (cf. oben p. 260) sehr ähnliche, Krankheit des Geflügels, namentlich junger Hühner („Gastro-entérite cholérique“). Pathologisch-anatomisch unterscheidet sich die Krankheit von der Hühnercholera besonders dadurch, dass die Milzschwellung fehlt, und dass der Darm einen mehr choleraähnlichen Zustand zeigt. Gamaleïa führte den Nachweis, dass die genannte Krankheit veranlasst wird durch eine bestimmte Kommabacillenart („Vibrio Metschnikovi“), welche dem Cholerabacillus in vieler Beziehung ausserordentlich ähnlich ist.

Eine genauere Kenntniss des Vibrio Metschnikoff verdanken wir R. Pfeiffer[2]) und Nocht. Die Autoren haben sich im Koch'schen Institute eingehend mit dem genannten Mikroorganismus beschäftigt.

Der Vibrio Metschnikoff ist ein gekrümmtes Stäbchen, ein Kommabacillus. Seine Zellen sind etwas kürzer und erheblich stärker gekrümmt als die des Cholerabacillus (cf. Taf. X, Fig. 58). Diese starke Krümmung, welche den Zellen des Vibrio Metschnikoff häufig eine nahezu halbkreisförmige Gestalt verleiht, ist ganz characteristisch für diesen Vibrio. Sie unterscheidet ihn von allen anderen bekannten Kommabacillenarten. Der Organismus ist lebhaft eigenbeweglich. Die Bewegung wird vermittelt durch einen langen, sehr feinen Geisselfaden, welcher, wie beim Cholerabacillus, dem einen Ende der Zelle angeheftet ist. Die Geisseln lassen sich nach der oben (p. 75 ff.) beschriebenen Loeffler'schen Methode gut darstellen. In künstlichen Culturen zeigen sich häufig (ähnlich wie beim Cholerabacillus) Spirillenbildungen.

Der Vibrio Metschnikoff ist facultativ anaërob. Er wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur; bei letzterer wächst er schneller.

Auf der Gelatineplatte zeigen nicht alle Colonien des Vibrio M. identisches Aussehen. Während eine Reihe von Colonien in ihrer Gestalt, der Schnelligkeit ihres Wachsthums und der Verflüssigung der Gelatine von Colonien des Finkler'schen Kommabacillus makroskopisch sowohl wie mikroskopisch kaum zu unterscheiden sind, zeigen

[1]) Annales de l'Inst. Pasteur. 1888. No. 9, 10.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 7. 1889.

andere Colonien derselben Platte in den genannten Beziehungen ausserordentliche Aehnlichkeit mit dem Cholerabacillus. Der Vibrio M. neigt also sehr dazu, Spielarten zu bilden. In der Gelatinestichcultur zeigt sich die Wachsthumsschnelligkeit des Vibrio M. etwa der des Deneke'schen Kommabacillus entsprechend. Im Uebrigen sind Gelatinestichculturen des Vibrio M. von entsprechend älteren Cholerabacillusculturen in ihrem Aussehen nicht zu unterscheiden.

Auf der Agaroberfläche bildet der Vibrio M. Beläge, welche denen des Cholerabacillus gleichen.

Bouillonculturen des Vibrio M. zeigen allgemeine Trübung und event. auch oberflächliche Kahmhautbildung, genau wie Cholerabacillusculturen. Durch Zusatz von salpetrigsäurefreien Mineralsäuren erhält man Rothfärbung (Nitrosoindolreaction) genau wie bei Choleraculturen (cf. oben p. 277).

Auf Kartoffeln wächst der Vibrio M. (wie dies auch der Cholerabacillus thut) nur bei Brüttemperatur und bei hoher Zimmertemperatur (21—22° C.). Das Wachsthum ist etwas kräftiger als das des Cholerabacillus; die auf den Kartoffeln entstehenden Beläge gleichen im Uebrigen denen des Cholerabacillus (cf. p. 271).

Sporenbildung ist bei dem Vibrio M. nicht nachgewiesen.

Leicht und mit Sicherheit von dem Cholerabacillus zu unterscheiden ist der Vibrio Metschnikoff durch den Thierversuch. Tauben (die der Cholerainfection kaum zugänglich sind) bilden geradezu ein Reagens auf den Vibrio M. Impft man einem solchen Thiere eine minimale Menge der Cultur in den Brustmuskel, so geht das Thier innerhalb von 20 Stunden zu Grunde. Es findet sich eine ausgedehnte gelbliche Verfärbung und Nekrose des geimpften Muskels; derselbe ist von einem blutigen Oedem durchtränkt, in welchem die Vibrionen massenhaft zu finden sind. (Auf Taf. X, Fig. 58, ist ein Ausstrichpräparat des Muskelsaftes der Taube bei 1000facher Vergrösserung dargestellt. Man bemerkt hier neben zwei rothen Blutkörperchen, deren Kerne intensiv gefärbt hervortreten, eine Menge der characteristisch gekrümmten Vibrionen.) Ebenso finden sich die Vibrionen in ungeheuren Mengen im Herzblut. Die Lungen zeigen sich blutreich, Leber und Milz anaemisch und schlaff. Der Darm ist blass, mit mehlsuppenartiger Flüssigkeit in mässigem Grade erfüllt. Hier finden sich Vibrionen nur in geringerer Anzahl. Vom Magen aus sind Tauben kaum zu inficiren. Junge Hühner verhalten sich genau wie Tauben. Nur finden sich in ihrem Herzblut nicht so ungeheure Mengen der Vibrionen wie bei Tauben.

Mäuse sind wenig empfänglich, Kaninchen unempfänglich.

Sehr empfänglich sind dagegen Meerschweinchen. Diese Thiere lassen sich sowohl subcutan wie vom Magen aus tödtlich inficiren; in dem letzteren Falle muss man (wie bei der experimentellen Erzeugung der Meerschweinchencholera [cf. p. 273]) den Mageninhalt vorher mit Sodalösung alkalisch machen und durch intraperitoneale Einverleibung von Opiumtinctur die Darmperistaltik eliminiren.

Die Vertheilung der Vibrionen in dem Körper der an der Infection zu Grunde gegangenen Thiere hat R. Pfeiffer veranlasst, den Namen „Vibrionenseptica emie" für die durch den Vibrio M. veranlasste Krankheit vorzuschlagen.

Meerschweinchen und Tauben lassen sich durch Einverleibung sterilisirter Culturen gegen die Infection mit lebenden Culturen immunisiren.[1]) Das Blutserum immunisirter Meerschweinchen besitzt (im Gegensatz zu dem Blutserum normaler Meerschweinchen) bactericide Eigenschaften dem Vibrio M. gegenüber (Behring und Nissen; cf. oben p. 186, Anm. 1).

Aeltere Bouillonculturen des Vibrio M. reagiren stark alkalisch. Dieselben enthalten einen auf die empfänglichen Versuchsthiere äusserst giftig einwirkenden chemischen Körper gelöst. Neutralisirt man die (vorher im Dampftopf bei 100° C. sterilisirten) Bouillonculturen mit Salzsäure, so bleibt die Giftigkeit derselben ungeändert; die Neutralisation mit Schwefelsäure hingegen schwächt die Giftwirkung erheblich ab.

Der Vibrio Metschnikoff färbt sich mit kalten Farblösungen; er färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

17. Der Vibrio Berolinensis.

Neben dem Choleravibrio beansprucht — nächst dem Vibrio Metschnikoff — der „Vibrio Berolinensis" das grösste Interesse unter den pathogenen Kommabacillenarten. Dieser Organismus wurde im Sommer 1893 von M. Neisser[2]), der in Rubner's Institut arbeitete, in Berliner Leitungswasser aufgefunden.

Es handelt sich um einen Kommabacillus, der in der Form der Einzelzellen, in der Gestalt und Anheftungsweise der Geisselfäden

---

[1]) Gamaleïa hatte angegeben, dass der Vibrio M. sich benutzen lässt, um Thiere gegen die Infection mit dem Cholerabacillus zu immunisiren, und dass umgekehrt auch mit Hülfe des Cholerabacillus Thiere gegen Infection mit dem Vibrio M. immun gemacht werden können. R. Pfeiffer und Nocht haben nachgewiesen, dass von einer solchen wechselseitigen Immunität keine Rede ist.

[2]) Cf. die vorläufige Mittheilung von Rubner, Hygienische Rundschau 1893. No. 16. Die ausführliche Neisser'sche Arbeit wird im „Archiv für Hygiene" erscheinen.

dem Cholerabacillus völlig gleicht. Der Vibrio Berolinensis wächst bei Zimmer- und bei Brüttemperatur; bei der letzteren wächst er schneller.

Der Vibrio Berolinensis ist durch die Form der Gelatineplattencolonie von dem Choleravibrio ohne Weiteres zu unterscheiden. Junge (1 bis 2 Tage alte) Colonien zeigen nicht wie die des Choleravibrio (cf. p. 270) grobkörniges Gefüge, sondern sind erheblich viel feinkörniger, in der Durchsicht heller als die des Choleravibrio; der Rand ist nicht wie der der Choleracolonien unregelmässig höckerig, sondern meist absolut glatt und kreisrund, nur selten ganz wenig unregelmässig gestaltet. Mit zunehmendem Alter nehmen die Colonien (besonders die mehr isolirt liegenden, von einem grösseren Bezirke steriler Gelatine umgebenen) gewöhnlich ein (heller oder dunkler) bräunliches Colorit an und bekommen dabei ein buckeliges, höckeriges, manchmal nahezu radiär gelapptes Aussehen; aber auch in diesem Stadium sind sie von Choleracolonien dadurch mit Sicherheit zu unterscheiden, dass das Gefüge der Buckel, Höcker und Lappen nicht grobkörnig, sondern feinkörnig ist. Die Colonien haben die Tendenz, über eine gewisse geringe Grösse nicht hinauszugehen. Die Gelatine wird sehr langsam verflüssigt. In der Gelatinestichcultur zeigt sich Wachsthum längs des ganzen Impfstiches; von oben her erfolgt ganz allmähliche Verflüssigung der Gelatine.

In der Agar-Oberflächenstrichcultur wächst der Vibrio B. gewöhnlich wie der Choleravibrio. Mitunter (besonders wenn das Wachsthum von einzelnen dünnen Impfstrichen ausgegangen und die Oberfläche des Nährbodens bereits etwas eingetrocknet ist) kommt es auf der Agaroberfläche zur Ausbildung voluminöser trockener, runzeliger, an chagrainirtes Leder erinnernder Auflagerungen.

Ausserordentlich empfindlich sind Meerschweinchen gegen die Einverleibung des Vibrio B. Bringt man einem Meerschweinchen von 300 bis 400 g Gewicht die Aufschwemmung einer kleinen Platinöse frischer Agarcultur des Vibrio intraperitoneal bei, so geht das Thier unter Temperaturabfall in 1 bis 2 Tagen zu Grunde. Es zeigt dann einen ganz ähnlichen Befund wie die nach intraperitonealer Einverleibung des Choleravibrio gestorbenen Meerschweinchen (cf. p. 275).

Die Nitrosoindolreaction zeigt der Vibrio B. genau so wie der Choleravibrio.

Der Vibrio B. erfährt bei der Vorcultur in Peptonlösung im Brütschrank eine Vermehrung in den oberen Flüssigkeitsschichten wie der Cholerabacillus (cf. p. 290).

Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färbt sich der Vibrio B. nicht.

18. Der Kommabacillus von Finkler und Prior („Vibrio Proteus") und der Miller'sche Kommabacillus.

Mit dem Koch'schen Kommabacillus der Cholera asiatica für identisch gehalten wurde von Finkler[1]) und Prior eine Kommabacillenart, welche diese Forscher (1884) in mehrere Tage alten, faulenden Dejectionen eines Falles von „Cholera nostras" fanden. Eine genauere Prüfung des Finkler'schen Kommabacillus hat ergeben, dass derselbe von dem Cholerabacillus total verschieden ist, dass derselbe aber auch mit der „Cholera nostras" nicht das Geringste zu thun hat.[2]) Der Finkler'sche Vibrio ist später nie wieder, weder bei „Cholera nostras" noch sonst irgendwo, einwandsfrei aufgefunden worden.[3]) Er hat heute nur noch historisches Interesse. Seine Culturen werden in den bakteriologischen Laboratorien von Reagenzglas zu Reagenzglas weitergezüchtet. Vielleicht ist der Vibrio Finkler identisch mit einem (1885) von W. D. Miller[4]) aus einem cariösen Zahne isolirten Kommabacillus.

Der Finkler'sche Kommabacillus („Vibrio Proteus") erscheint etwas grösser als der Cholerabacillus, ist im Uebrigen morphologisch kaum von dem letzteren zu unterscheiden. Er ist sehr lebhaft beweglich, wächst in künstlichen Culturen, wie dies auch der Cholerabacillus thut, häufig zu Spirillen aus (beginnende Involution). Die Kommabacillen tragen je eine Geissel, die, wie bei den Cholerabacillen, an dem einen Ende angebracht ist.

Auf künstlichen Nährböden cultivirt unterscheidet sich der Finkler'sche Bacillus ausserordentlich von dem Cholerabacillus. Er wächst bei Zimmertemperatur ganz unvergleichlich viel schneller, verflüssigt die Gelatine viel energischer. Taf. XI, Fig. 64, zeigt eine Gelatinestichcultur der Finkler'schen Bacillen, die mit der daneben, Fig. 63, dargestellten Cholerabacillencultur zu derselben Zeit in identischem Nährboden angelegt, auf demselben Reagenzglasgestell gehalten und nach 9 Tagen zugleich mit der Choleracultur photographirt wurde. Man sieht ohne Weiteres die grossen Unter-

---

[1]) Tageblatt der 57. Vers. deutscher Naturf. u. Aerzte. Magdeburg. 1884. p. 216 ff. (Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 632, 657). — Tageblatt d. 58. Vers. deutsch. Naturf. u. Aerzte. Strassburg. 1885. p. 438—440. — Ergänzungshefte z. Centralbl. f. allg. Ges.-Pfl. Bd. 1. 1885. p. 279 ff.

[2]) Vergl. das oben (p. 279) über die Aetiologie der „Cholera nostras" Gesagte.

[3]) cf. R. Koch, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 14. 1893. p. 329.

[4]) Verein f. inn. Med. 16. Febr. 1885. — Deutsche med. Woch. 1885. p. 138. — Siehe auch W. D. Miller, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. 2. Aufl. Leipzig 1892. p. 65 ff.

schiede in der Gestalt der Culturen. Die Finkler'schen Bacillen sind also leicht von den Cholerabacillen zu unterscheiden.

Auf der Gelatineplatte ist das Wachsthum des Finkler'-schen Bacillus ein der Stichcultur entsprechendes. Es bilden sich hier schnell kreisrunde, schnell an Umfang zunehmende Colonien, in deren Bereich die Gelatine verflüssigt ist.

Auf Agar bilden sich grauweisse, glänzende Ueberzüge aus. In Bouillonculturen kann sich gelegentlich, in ähnlicher Weise wie bei dem Choleravibrio, eine oberflächliche Kahmhaut bilden.

Auf Kartoffeln wächst der Finkler'sche Bacillus — zum Unterschiede von dem Cholerabacillus (cf. p. 271) — viel schneller: er gedeiht auf diesem Nährboden schon bei gewöhnlicher Temperatur. Er bildet hier grau- bis braungelbe, saftige, schleimige Beläge.

Die Finkler'schen Bacillen sind für Meerschweinchen pathogen. Die Pathogenität für die Meerschweinchen ist eine geringere als die des Cholerabacillus. Man kann die Thiere, ebenso wie dies bei dem Cholerabacillus geschah, mit den Finkler'schen Kommabacillen vom Darmkanal aus inficiren (cf. oben p. 273). Der Darminhalt zeigt — zum Unterschiede von der Cholerainfection — starken Fäulnissgeruch[1]).

Die Nitrosoindolreaction (p. 277) zeigen die Finkler'-schen Bacillen bei Anwendung reiner Mineralsäuren nicht.

In der menschlichen Pathologie spielen die Finkler'schen Bacillen, wie bereits oben ausgeführt, eine Rolle allem Anscheine nach nicht.

19. Der Deneke'sche Kommabacillus.

Der Deneke'sche Kommabacillus (Vibrio Deneke, Spirillum tyrogenum, Käsespirillum) wurde von Deneke[2]) im Flügge'schen Institut gelegentlich aus einem längere Zeit aufbewahrten Käse gezüchtet. Später scheint dieser Vibrio nie wieder aufgefunden worden zu sein. Seine Culturen werden in den Laboratorien von Glas zu Glas weitergezüchtet.

Die Einzelzellen des Vibrio Deneke sind vielleicht etwas kleiner als die des Choleravibrio. Jede Zelle besitzt — wie der Choleravibrio und die übrigen Kommabacillenarten auch — einen einzigen, dem einen Ende der Zelle angehefteten, Geisselfaden.

Der Vibrio Deneke ist durch eine Reihe von Culturmerkmalen

---

[1]) Vergl. R. Koch, Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Zweites Jahr. 1885; Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 37A. p. 6.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 3.

von den übrigen Kommabacillenarten mit Sicherheit zu unterscheiden. Zunächst gelingt es — wenigstens gilt dies für die jetzt in den Laboratorien befindlichen Culturen[1] — nicht ihn bei Brüttemperatur (37° C.) zum Wachsthum zu bringen. Dagegen wächst er noch bei 31° C. Das Temperaturoptimum scheint bei c. 22° C. zu liegen.

Auf der Gelatineplatte sowohl wie in der Gelatinestichcultur steht bezüglich der Schnelligkeit des Wachsthums der Vibrio Deneke zwischen dem Choleravibrio und dem Vibrio Finkler. Die Gelatine wird verflüssigt. Es bildet sich in den Gelatineculturen ein intensiv citronen- bis orangegelber Farbstoff. Auf der Oberfläche der verflüssigten Gelatinestichcultur kommt es — besonders schnell bei etwa 22° C. — zur Bildung einer äusserst kräftigen, üppigen Kahmhaut, welche nicht selten von solcher Festigkeit ist, dass man das Culturgefäss umkehren kann, ohne dass sie zerreisst. Die Colonien auf der Gelatineplatte können in gewissen Entwickelungsstadien täuschende Aehnlichkeit mit Choleracolonien haben.

Auf der Agaroberfläche bildet der Vibrio D. durchscheinende, leicht gelblichgrau gefärbte, glänzende Ueberzüge.

Auf Kartoffeln findet kein Wachsthum statt.

In den Culturen des Deneke'schen Vibrio bilden sich häufig kürzere oder längere Spirillenformen aus, welche — wie die entsprechenden Formen anderer Kommabacillenarten (cf. p. 13, 268) — als der Ausdruck beginnender Involution aufzufassen sind.

Für Meerschweinchen zeigt der Deneke'sche Vibrio eine gewisse Pathogenität, die aber noch geringer ist als die des Finkler'schen Vibrio. Die Thiere lassen sich durch Einverleibung der Culturen vom Magen aus (nach Alkalisirung des Mageninhaltes und intraperitonealer Darreichung von Opium wie bei den Choleraversuchen; cf. p. 273) mitunter tödtlich inficiren[2].

Die Culturen des Vibrio D. zeigen bisweilen (cf. oben p. 278, Anm. 2) die Nitrosoindolreaction (bei Zusatz reiner Mineralsäuren).

20. Das Bacterium coli commune.

In den unteren Partien des normalen Säuglingsdarmes wurde (1885) von Escherich[3]) eine Bakterienart constant aufgefunden

[1]) Ob die von Deneke ursprünglich aus dem Käse erhaltenen Culturen die Fähigkeit des Wachsthums bei Brüttemperatur gehabt haben, darüber habe ich in der Literatur eine Angabe nicht zu finden vermocht.

[2]) cf. R. Koch, Conferenz zur Erörterung der Cholerafrage. Zweites Jahr. 1885; Deutsche med. Wochenschr. 1885. No. 37 A. p. 6.

[3]) Fortschr. d. Med. 1885. No. 16 u. 17.

(„Bacterium coli commune"), die sich später überhaupt als ein regelmässiger Bewohner des menschlichen Dickdarmes herausgestellt hat, und die in menschlichen Fäces (normalen sowohl wie nicht normalen) ganz gewöhnlich angetroffen wird. Auch in thierischen Fäces scheint sie ganz gewöhnlich vorhanden zu sein.

Das Bacterium coli commune bildet 0,3 bis 0,4 μ breite, bald schlanker, bald plumper erscheinende Kurzstäbchen, die bald einzeln, bald paarweise auftreten und eine mässige Eigenbeweglichkeit besitzen. Die Eigenbewegung wird vermittelt durch Geisselfäden[1]), welche meist in der Einzahl an dem einen Ende der Zelle angebracht sind; bisweilen finden sich aber auch mehrere (bis etwa 3 bis 4) Geisseln an einer Zelle angebracht. Die Geisselfäden lassen sich nach der Loeffler'schen Methode (p. 75 ff.) mikroskopisch zur Darstellung bringen.

Das Bacterium coli commune wächst bei Sauerstoffanwesenheit auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden. Es wächst bei Zimmertemperatur und bei Brüttemperatur, bei letzterer schneller.

Auf der Gelatineplatte bilden die innerhalb der Gelatine liegenden Colonien kleine weissliche runde Zusammenlagerungen, die in ihrer Ausdehnung über etwa Stecknadelknopfgrösse nicht hinausgehen. Die an der Oberfläche der Gelatine liegenden Colonien haben ein ganz anderes, characteristisches Gepräge: Die Colonie bildet ein der Gelatine aufliegendes, rundlich gestaltetes, häufig unregelmässig zackig begrenztes, weisslichgraues, irisirendes Häutchen, welches die Tendenz hat, sich weiter über die Oberfläche des Nährbodens hin auszubreiten. In der beschriebenen Gestalt der oberflächlichen Colonien auf der Gelatineplatte ist das Bacterium coli dem Typhusbacillus ausserordentlich ähnlich (cf. p. 246). In der Gelatinestichcultur findet Wachsthum im Verlauf des ganzen Impfstiches statt; an der Oberfläche der Gelatine bildet sich das dünne Häutchen (wie bei der Plattencultur), welches bald die ganze freie Oberfläche des Nährbodens überzieht.

Das Bacterium coli verflüssigt die Gelatine nicht.

Auf der Agaroberfläche bildet das Bacterium coli grauweisse, saftig glänzende Beläge.

In Bouillon bewirkt es allgemeine Trübung der Flüssigkeit.

Auf Kartoffeln bilden sich saftige Ausbreitungen von mais- bis erbsengelber Farbe.

Milch wird — bei gewöhnlicher Temperatur langsamer, bei

[1]) cf. Luksch, Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 430.

Brüttemperatur schneller — unter Säurebildung zur Gerinnung gebracht (cf. oben p. 249).

Traubenzuckerlösungen (z. B. Traubenzuckerbouillon), und auch Lösungen anderer Zuckerarten, werden unter Säurebildung vergohren. Dabei findet Gasbildung statt; das gebildete Gas besteht z. Th. aus Kohlensäure, z. Th. ist es brennbar.

Bei Zusatz von Kaliumnitrit und Schwefelsäure zu Culturen des Bacterium coli auf peptonhaltigen Nährböden tritt Rothfärbung ein (Nitrosoindolreaction; cf. p. 248).

Sporenbildung existirt bei dem Bacterium coli commune nicht.

Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) lassen sich die Stäbchen nicht färben.

Das Bacterium coli commune wurde früher allgemein für einen Mikroorganismus angesehen, dem keine oder doch nur eine sehr geringe Pathogenität zukäme. Zwar sah bereits Escherich[1]) Meerschweinchen und Kaninchen nach intravenöser Einverleibung mässiger Culturmengen innerhalb weniger Stunden bis 3 Tagen unter Temperatursteigerung und Entwickelung heftiger Diarrhöen zu Grunde gehen; aber eine ausgedehntere pathogene Rolle, namentlich eine Rolle in der menschlichen Pathologie, wurde dem Bacterium coli nicht zugeschrieben. Erst Laruelle[2]) hat (1889) darauf aufmerksam gemacht, dass diese Ansicht nicht richtig ist. Laruelle beobachtete zwei Fälle von Perforationsperitonitis beim Menschen, bei denen er im Exsudate das Bacterium coli fand; und es gelang dem Autor auch, bei Thieren durch Einverleibung der Culturen experimentell Peritonitis zu erzeugen.

Seitdem sind bereits eine ganze Anzahl Fälle von Perforationsperitonitis beim Menschen bekannt geworden, in denen sich das Bacterium coli commune in Reincultur im Exsudat gefunden hat. Das in solchen Fällen aus dem peritonitischen Exsudate gezüchtete Bacterium coli hat erheblich viel virulentere Eigenschaften als das aus dem gesunden Darm gezüchtete. Alex. Fränkel[3]) sah Kaninchen nach intraperitonealer Injection derartiger, von menschlichen Krankheitsfällen stammender Culturen nach 3 bis 4 Tagen (mitunter auch bereits nach einem Tage) zu Grunde gehen. Man findet bei der Section eine fibrinös-eitrige Peritonitis; im Exsudat sowohl wie im Herzblut findet sich Bacterium coli in Reincultur. Nach dem Vorgange des genannten

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1885. p. 521.
[2]) Cf. Baumgarten's Bakt. Jahresber. 1889. p. 335.
[3]) Wien. klin. Wochenschr. 1891. No. 13—15.

Autors kann man sich ein virulentes Bacterium coli beliebig dadurch verschaffen, dass man Versuchsthieren einen künstlichen Darmverschluss[1]) herstellt. Nach dem Tode der Thiere findet sich im peritonitischen Exsudate das virulente Bacterium coli.

Ausser der Perforationsperitonitis vermag das Bacterium coli commune vielleicht auch noch andere krankhafte Processe beim Menschen hervorzurufen.

Mit dem Bacterium coli commune ist ohne Zweifel identisch der sogenannte „Emmerich'sche Bacillus" („Bacillus Neapolitanus"). Derselbe wurde von Emmerich[2]) (1884) aus älterem Material von Neapler Choleraleichen cultivirt und zunächst auf Grund von Thierversuchen als Erreger der Cholera asiatica proclamirt. Es hat sich in der Folge, namentlich durch gründliche Untersuchungen von Weisser[3]), gezeigt, dass der Emmerich'sche Bacillus, der „Neapler Cholerabacillus", ein Mikroorganismus ist, der in menschlichen Fäces, normalen sowohl wie nicht normalen, in der Luft und in faulenden Flüssigkeiten ganz gewöhnlich gefunden wird, und der nicht das Allergeringste mit der Cholera zu thun hat.

21. Der Gonorrhoecoccus.

Bei den gonorrhoischen Affectionen der Harnröhre und der Conjunctiva wurden 1879 durch Neisser[4]) eigenthümlich gestaltete Mikrococcen im Eiter entdeckt. Dieselben schienen einen für die Gonorrhoe specifischen Befund darzustellen und wurden von Neisser mit dem Namen „Gonococcus" belegt.

Die Beobachtungen von Neisser wurden vielfach bestätigt. Es gelang dann hauptsächlich Bumm[5]), den Gonococcus in sicheren Reinculturen zu gewinnen und durch Uebertragung der Reinculturen typische Gonorrhoe beim Menschen hervorzurufen. Durch Wertheim[6]) sind später die Reinzüchtungsmethoden des Gonococcus erheblich vervollkommnet worden.

---

[1]) Al. Fränkel experimentirte an einem Hunde, dem er nach Laparotomie den Darm unterband.

[2]) Deutsche med. Wochenschr. 1884. No. 50.

[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 1. 1886.

[4]) Centralbl. f. d. med. Wiss. 1879. No. 28.

[5]) Der Mikroorganismus der gonorrhoischen Schleimhauterkrankungen „Gonococcus-Neisser". Wiesbaden 1887.

[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. No. 50. — Archiv f. Gyn. Bd. 42. 1892.

Der Gonorrhoeccoccus wird im Trippereiter, und zwar innerhalb der Eiterzellen, gefunden. Die Coccen, welche in grösserer oder geringerer Anzahl um die Kerne der Zellen herum gruppirt sind, erscheinen gewöhnlich im Zustande der Theilung, als Diplococcen. Die einzelnen Coccen erscheinen dann gewöhnlich nieren-, semmelförmig; die Hilen der Nieren sind einander zugekehrt. Fig. 65 auf Taf. XI zeigt die typische Erscheinungsweise der Gonococcen im Trippereiter. Man erkennt hier unschwer die Umgrenzungen der Eiterzellen, innerhalb deren die grossen, mehrfachen Kerne liegen, um welche herum dann die Coccen gruppirt sind.

Die Gonococcen lassen sich, wie bereits gesagt, künstlich cultiviren. Bumm, welchem die künstliche Cultur zuerst gelang, sah ein Wachsthum ausschliesslich auf Blutserum eintreten, und zwar bei Brüttemperatur. Am besten eignete sich menschliches Blutserum, welches man nach Bumm's Vorgang aus Placenten gewinnen kann (cf. p. 120). Die Cultur bildet auf dem erstarrten Blutserum sehr zarte, durchsichtige, wenig ausgedehnte Ueberzüge, die gewöhnlich zackige Vorsprünge und scharf geschnittene Ränder haben. Die Uebertragung auf neuen Nährboden muss sehr bald geschehen, da in 3 Tagen etwa die Cultur bereits abzusterben beginnt.

Wertheim hat später nachgewiesen, dass das menschliche Blutserum ein viel weniger günstiger Nährboden für den Gonococcus ist als eine Mischung von Blutserum und gewöhnlichem Nähragar.

Um mit Hülfe des Blutserum-Agar aus Trippereiter die Gonococcen auf Platten in isolirten Colonien zu gewinnen, verfährt man nach Wertheim[1]) folgendermassen: Mehrere Oesen Trippereiters werden in flüssigem menschlichen Blutserum (im Reagenzglase) sorgfältig vertheilt, und es werden von dem so inficirten Blutserum zwei Verdünnungen in neuen Blutserumröhrchen in bekannter Weise (cf. oben p. 127) angefertigt. Die Röhrchen werden sofort nach der Beschickung in ein Wasserbad von 40° C. gestellt, und der Inhalt eines jeden Röhrchens wird darauf mit etwa der gleichen Menge 2proc. Nähragars (cf. p. 116), welches zunächst geschmolzen und dann auf 40° C. abgekühlt wurde, gut gemischt. Die Mischung wird auf Platten (oder in Schälchen etc.) ausgegossen, welche in den Brütschrank gestellt werden. Auf so hergestellten Platten zeigen sich bereits nach

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1891. p. 1351. — Wertheim benutzt hierbei das von Hueppe (cf. oben p. 141) angegebene Verfahren der Verwendung des Blutserums zu Plattenculturen.

24 Stunden isolirte Colonien der Gonorrhoecoccen. Nach 48 Stunden des Wachsthums findet man auf den Verdünnungsplatten die tiefliegenden Colonien von weisslichgrauem Aussehen; mikroskopisch zeigen sie ein höckeriges Gefüge; nach 72 stündigem Wachsthum haben die tiefliegenden Colonien Brombeerform angenommen. Die oberflächlich liegenden Colonien zeigen mikroskopisch ein central gelegenes, dunkleres Pünktchen, umgeben von einem sehr zarten, durchsichtigen, farblosen, feinkörnigen, nach allen Seiten ziemlich gleichmässig sich ausbreitenden Oberflächenbelag.

Ueberträgt man das (zähschleimige, consistente) Material einer solchen isolirten Plattencolonie auf schräg erstarrtes Blutserumagar (am besten nimmt man hierzu eine Mischung von 1 Theil menschlichen Blutserums und 2 bis 3 Theilen Nähragar[1]) in Form des oberflächlichen Impfstriches, so beobachtet man ein ausserordentlich üppiges Wachsthum der Gonococcen. Schon nach 24 stündigem Aufenthalt im Brütschrank sieht man an der Cultur zahlreiche weisslichgraue Pünktchen aufschiessen, die sich rasch vergrössern, zusammenfliessen und bald einen grossen, zusammenhängenden, weisslichgrauen, feucht glänzenden, bei der Abimpfung zähschleimig erscheinenden Rasen bilden, welcher beim weiteren Wachsthum vom Rande aus einen farblosen, ungemein zarten Belag vorschiebt. Das Condensationswasser (cf. p. 118) des Röhrchens bedeckt sich mit einer zusammenhängenden Culturhaut.

Statt der Mischung von menschlichem Blutserum mit Agar kann nach Wertheim auch eine Mischung von thierischem Blutserum (z. B. Rinderserum) mit Agar zur Cultivirung des Gonococcus verwandt werden. Das Wachsthum ist hier allerdings nicht so üppig wie auf der erstgenannten Mischung; immerhin gedeihen die Gonococcen auf dem Rinderserum-Agar viel besser als auf menschlichem Serum ohne Zusatz von Agar[2]).

Ein guter Nährboden ist ferner nach Wertheim[3]) ein Gemisch von flüssigem menschlichen Blutserum mit der doppelten Menge gewöhnlicher Nährbouillon. Hier zeigt sich nach 24 Stunden langem Aufenthalte im Brütschrank eine zarte grauweisse oberflächliche

---

[1]) Das geschmolzene und auf 40° C. wieder abgekühlte Agar wird mit dem auf 40° C. erwärmten flüssigen Serum gemischt. Nach der Vermischung werden die Röhrchen in schräger Lage (cf. oben p. 118) der Abkühlung und dabei eintretenden Erstarrung überlassen.

[2]) Wertheim, Arch. f. Gyn. Bd. 42. 1892. p. 25.

[3]) Ebenda p. 24.

Kahmhaut. Die Flüssigkeit selbst bleibt ganz klar, enthält nur wenige von der Kahmhaut abgelöste Bröckel.

Die mit den Serummischungen hergestellten Culturen des Gonococcus zeigen sich — vor Austrocknung bewahrt — noch nach 4 bis 6 Wochen übertragungsfähig und virulent.

Die mikroskopische Prüfung der künstlichen Gonococcenculturen zeigt die Gonococcen von der typischen, der mikroskopischen Erscheinungsweise im Trippereiter entsprechenden, Gestalt.

Bezüglich der künstlichen Cultivirung des Gonococcus muss übrigens noch bemerkt werden, dass ein minimales Wachsthum auch auf gewöhnlichem Agar und speciell auf Glycerin-Agar (p. 117) stattfindet[1]).

Die Uebertragung der künstlichen Cultur des Gonococcus auf die normale Urethra des Menschen hat, wie bereits Bumm fand und Wertheim[2]) bestätigte, die Entwickelung typischen Harnröhrentrippers zur Folge.

Bei Thieren lässt sich das typische Bild der Gonorrhoe durch Verimpfen gonorrhoischen Materials nicht erzeugen. Dennoch verhalten sich manche Versuchsthiere, wie Wertheim ermittelt hat, für die Infection mit dem Gonococcus in gewisser Weise empfänglich. Am besten eignen sich weisse Mäuse für diesen Zweck, ferner Meerschweinchen, weniger gut Kaninchen und Ratten; ablehnend verhalten sich Hunde. Bringt man nämlich einem empfänglichen Thiere eine kleine Quantität der Gonococcencultur (und zu gleicher Zeit etwas von dem Agarnährboden selbst) in die Bauchhöhle, so beobachtet man die Entstehung örtlicher eitriger Peritonitis; den Tod der Versuchsthiere hat die Infection nie im Gefolge.

---

[1]) Diese Thatsache, welche von verschiedenen Autoren angegeben ist, kann der Herausgeber dieses Buches bestätigen. Bei früheren, in der Lassar'schen dermatologischen Klinik ausgeführten Untersuchungen konnte ich regelmässig durch Verimpfung frischen Trippereiters (der sich bei der mikroskopischen Untersuchung — soweit das eben eine solche Untersuchung feststellen kann — als ausschliesslich gonococcenhaltig und als frei von anderen Mikroorganismen erwies) auf die Oberfläche von Glycerinagar Culturen erzielen, die sich mikroskopisch aus Mikrococcen bestehend erwiesen, welche in dem mikroskopischen Bilde die Gestalt der Trippercoccen hatten und sich, nach Gram behandelt, entfärbten. Die Culturen stellten ganz unscheinbare, dünne, glänzende, ungefärbte Ueberzüge von geringer Flächenausbreitung dar. Es gelang diese Beläge von einem Röhrchen in das andere zu übertragen. Ich habe damals diesen Befund skeptisch aufgenommen: nach den neuen Wertheim'schen Publicationen zweifle ich nicht mehr daran, dass ich in den Culturen echte Gonococcen vor mir hatte.

[2]) Wertheim experimentirte an Paralytikern.

Der Gonococcus färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.). Deckglaspräparate von Trippereiter färbt man am besten mit einfacher wässerig-alcoholischer Methylenblaulösung (cf. p. 63). Die Coccen erscheinen dann tief dunkelblau, die Kerne der Eiterzellen weniger dunkelblau. Der Nachweis der typischen Gestalt der Coccen in Verbindung mit dem Nachweise der Lagerung innerhalb der Eiterzellen berechtigt zur Diagnose „Gonorrhoe".

Was die im Gefolge der ascendirenden Gonorrhoe auftretenden entzündlichen Vorgänge an den Tuben, den Ovarien, am Peritoneum, im Gewebe des Ligamentum latum betrifft, so hat Wertheim[1]) den Nachweis geführt, dass diese Erkrankungen sämmtlich ebenfalls durch den Gonococcus bedingt werden.

Frisch[2]) hat nachgewiesen, dass primär auch gonorrhoische Geschwüre des Rectums vorkommen.

22. Der Streptococcus des Erysipels.

Das constante Vorkommen von Streptococcen in der erysipelatösen Haut, und zwar das constante Vorkommen derselben am Rande des Erysipels und ihre ausschliessliche Anwesenheit in den Lymphgefässen, wurde zuerst durch R. Koch[3]) festgestellt. Fehleisen[4]) gelang es dann, die bei dem Erysipel gefundenen Streptococcen künstlich zu züchten und ihre pathogene Bedeutung durch erfolgreiche Verimpfung der Culturen auf Kaninchen und auf eine Anzahl von Menschen sicher zu stellen. Die Verimpfungen erzeugten typisches Erysipel.

Der Streptococcus des Erysipels ist, wie der Name sagt, ein in Kettenform angeordneter Micrococcus. Die Ketten können aus wenigen, aber auch sehr vielen einzelnen Coccen bestehen. Der Coccus wächst in künstlichen Culturen bei Zimmer- und bei Brüttemperatur, bei letzterer schneller.

Auf der Gelatineplatte bildet der Erysipelcoccus kleine punktförmige Colonien von weisslichgrauer Farbe, welche mikroskopisch als undurchsichtige, grobkörnige Gebilde erscheinen. Die Colonien erreichen einen grösseren Umfang überhaupt nicht. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Gelatinestichcultur bilden sich längs des Impfstiches sehr kleine, weisse, kugelrunde Colonien aus.

---

[1]) Arch. f. Gyn. Bd. 42. 1892. p. 85.
[2]) Würzb. phys.-med. Ges. Verhandlungen N. F. Bd. 25. 1891. p. 167 ff.
[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 38, 39, und Tafel I, II.
[4]) Die Aetiologie des Erysipels. Berlin 1883.

Auf der (bei Brüttemperatur gehaltenen) Agarplatte kommt es zur Entwickelung kleiner punktförmiger Colonien, welche auch hier eine grössere Ausdehnung nicht erreichen.

Streicht man das Material auf der Oberfläche von Nährgelatine oder von Agar aus, so kommt es auf den besäeten Stellen des Nährbodens zur Entwickelung kleiner, runder, durchscheinender, feinsten Thautröpfchen vergleichbarer Häufchen, welche dauernd von einander isolirt bleiben.

Erheblich besser als auf den genannten festen Nährböden wächst der Streptococcus des Erysipels in Bouillon. Er bildet hier einen wolkigen Bodensatz, der sich bei Bewegungen des Culturgefässes in die Flüssigkeit erhebt. Mikroskopisch findet man den Bodensatz bestehend aus schönen langen Ketten.

Auf Kartoffeln scheinen die Erysipelascoccen nicht oder kaum zu wachsen.

Die erfolgreiche Uebertragung der Coccen resp. die künstliche Erzeugung von Erysipel durch ihre Uebertragung ist, wie oben erwähnt, bei Menschen sowohl wie bei Kaninchen gelungen. Nach der Impfung am Ohr bekommen die Kaninchen eine von der Impfstelle aus auf Kopf und Nacken sich ausbreitende, mit Temperatursteigerung verlaufende erysipelatöse Hautentzündung, die in etwa 6—10 Tagen ihr Ende erreicht und in Genesung übergeht. In den erkrankten Partien findet man beim Kaninchen die Coccen genau so angeordnet wie bei dem Erysipel des Menschen, so dass es sich in der That um typisches Erysipel handelt.[1]) Mäuse erscheinen unempfänglich.

Bei der natürlichen Infection des Menschen bilden Hautverletzungen wohl ohne Zweifel die Eingangspforte für den Erreger.[2])

Die Erysipelascoccen färben sich mit wässerigen Farblösungen; sie färben sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Auf Taf. XI, Fig. 66, ist ein Schnitt durch die erysipelatöse Haut des Menschen bei 1000facher Vergrösserung dargestellt. Das nach meiner Modification der Gram'schen Methode gefärbte Präparat zeigt deutlich die kettenförmige Anordnung des Erysipelcoccus.

---

[1]) Nach Untersuchungen von Fessler (Klinisch-experimentelle Studien über chirurgische Infectionskrankheiten. München 1891. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 13. p. 197) bringt die gleichzeitige Verimpfung des Erysipelstreptococcus und des Bac. prodigiosus auf das Kaninchenohr eine sehr heftige Phlegmone mit Eiterung und Gewebsbrand hervor.

[2]) Unter Umständen scheint beim Menschen auch eine allgemeine Streptococceninfection in Folge von Hauterysipel vorkommen zu können. (cf. Pfuhl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892.)

Nach neueren Feststellungen von Jordan[1]) kommen beim Menschen typische Erysipelfälle vor, welche nicht durch den besprochenen Streptococcus, sondern durch andere Mikroorganismen hervorgerufen werden. Jordan beobachtete zwei Fälle, die durch den Staphylococcus pyogenes aureus (cf. den nächsten Abschnitt) veranlasst waren. Von diesen Fällen betraf der zweite eine Krankenwärterin, welche sich offenbar an dem ersten Falle, den sie gepflegt hatte, inficirt hatte.

23. Die Eitermikrococcen (pyogene Coccen).

Wo wir Eiterungen im Organismus antreffen, da finden sich auch Mikroorganismen. Dieser Satz hat für natürliche Verhältnisse ganz allgemeine Gültigkeit. Nur auf besonders künstliche Weise können wir, experimentell, Eiterung erzeugen, ohne dass Mikroorganismen dabei betheiligt sind.[2]) Unter natürlichen Verhältnissen wird die Eiterung stets durch Infection mit Mikroorganismen hervorgerufen.

Die verbreitetsten Eitermikroorganismen sind die („pyogenen") Staphylococcen. Dieselben wurden in acuten Abscessen mikroskopisch constant zuerst von Ogston[3]) gefunden. J. Rosenbach[4]), F. Krause[5]), Passet[6]), Garrè[7]), Hoffa[8]) und andere Autoren studirten die Staphylococcen mit Hülfe der modernen Reinculturmethoden und wiesen die ausgedehnte Bedeutung derselben in der menschlichen Pathologie nach.

Es giebt eine ganze Reihe von pyogenen Staphylococcen. Der verbreitetste, wichtigste, giftigste ist der Staphylococcus pyogenes aureus; der zweitwichtigste ist der Staphylococcus

---

[1]) Arch. f. klin. Chir. Bd. 42. 1891.

[2]) Scheurlen (Langenb. Arch. Bd. 36. 1887) sah nach Injection von sterilen Ptomaïnen Eiterung auftreten; Grawitz und de Bary (Virch. Arch. Bd. 108. 1887) haben gefunden, dass man durch subcutane Injection steriler chemisch reizender Flüssigkeiten, wie 5 proc. Lösung von Argent. nitric., stärkerer Ammoniakflüssigkeit, Terpentinöl, bei Hunden Abscesse erzeugen könne; Steinhaus (Die Aetiologie der acuten Eiterungen. Monographie. Leipzig 1889) wies eiterungserregende Fähigkeit auch für andere sterile chemische Körper nach.

[3]) Arch. f. klin. Chir. Bd. 25. 1880.

[4]) Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden (Bergmann) 1884; cf. auch Vortrag auf der 57. Vers. deutscher Naturf. u. Aerzte. Magdeburg 1884. (Deutsche med. Wochenschr. 1884. p. 631.)

[5]) Fortschr. d. Med. 1884. p. 221 ff.

[6]) Fortschr. d. Med. 1885. p. 33 ff.

[7]) Fortschr. d. Med. 1885. p. 165 ff.

[8]) Fortschr. d. Med. 1886. p. 75 ff.

pyogenes albus. Daneben hat man noch einen Staph. pyog. citreus, einen Staph. cereus albus und einen Staph. cereus flavus statuirt. Wir wollen nur die ersten beiden etwas genauer betrachten.

Ausser den pyogenen Staphylococcen haben auch noch andere Mikroorganismen eiterungserregende Eigenschaft. Unter diesen ist der Streptococcus pyogenes der bei Weitem wichtigste. Auch diesen werden wir daher besonders zu betrachten haben.

Die Art und Weise, wie durch Mikroorganismen Eiterung veranlasst wird, haben wir uns nach neueren Untersuchungen von H. Buchner so vorzustellen, dass gewisse chemische Körper, welche primär in der Bakterienzelle vorhanden sind, auf die Leukocyten des Körpers einen anlockenden („positiv chemotactischen“[1]) Einfluss ausüben. Buchner[2]) hat für eine grosse Reihe von Bakterienarten den Nachweis geführt, dass ihre eiterungserregende Fähigkeit an chemische, in der Bakterienzelle vorhandene Substanzen gebunden ist[3]). Liess Buchner durch Hitze sterilisirte Culturaufschwemmungen wochenlang stehen, so war, nachdem sich die Bakterienzellen zu Boden gesetzt hatten, nur der aus den Zellen bestehende Bodensatz eiterungserregend, nicht die Flüssigkeit. Die in der Bakterienzelle vorhandenen, eiterungserregenden chemischen Substanzen gehören, wie Buchner nachgewiesen hat, zu den Bakterienproteïnen[4]) (cf. p. 42). Diese chemotactisch wirksamen Eiweiss-

---

[1]) Mit dem Ausdrucke „Chemotaxis“ hat W. Pfeffer (Ueber chemotactische Bewegungen von Bakterien, Flagellaten und Volvocineen. Unters. a. d. Bot. Inst. Tübingen. Bd. 2. 1888.) gewisse Bewegungserscheinungen belegt, welche durch die Einwirkung gelöster chemischer Körper auf eigenbewegliche Mikroorganismen bei den letzteren zu Stande kommen. Pfeffer beobachtete nämlich, dass gelöste chemische Körper, welche (in einseitig zugeschmolzenen Capillarröhrchen disponirt) mit dem die beweglichen Mikroorganismen enthaltenden Wassertropfen in Contact gebracht werden, entweder attractiv, anziehend, oder repulsiv, abstossend, auf die Organismen einwirken. In dem ersten Falle dringen die Organismen in das Röhrchen ein („positive Chemotaxis“); in dem zweiten fliehen sie von ihm hinweg („negative Chemotaxis“). Die chemotactische Wirkung ist je nach der verschiedenen Art und Concentration der gelösten Körper, ferner je nach dem verschiedenen Organismenmaterial eine verschiedene.

[2]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 8. 1890. No. 11.

[3]) Für den Tuberkelbacillus hat R. Koch (cf. oben p. 231, Anm. 4) die Anwesenheit einer eiterungserregenden chemischen Substanz in der Bakterienzelle nachgewiesen.

[4]) Zur Extrahirung dieser chemotactisch wirksamen Körper aus den Bakterienzellen ging Buchner ursprünglich so vor, dass er die Culturen mit 0,5 proc. Kali-

körper scheinen eine hochgradige Beständigkeit zu haben. Selbst stundenlange Erhitzung auf 120° C. im Dampfkessel vernichtet ihre eiterungserregende Fähigkeit nicht. Durch Einverleibung dieser Proteïne in den Kaninchenkörper wird (aseptische) Eiteransammlung bewirkt; bringt man den Thieren diese Substanzen intravenös bei, so entsteht, wie Buchner[1]) und Roemer feststellten, starke Vermehrung der Leukocyten im Blute (Leukocytose). Uebrigens hat Buchner[2]) gefunden, dass ausser den Bakterienproteïnen auch andere Eiweisskörper (Glutencaseïn, Alkalialbuminat, Leim etc.) eiterungserregend (positiv chemotactisch auf Leukocyten) wirken.

Wir wenden uns jetzt zur Betrachtung derjenigen Bakterienarten, welche am häufigsten als Erreger spontaner Eiterungen auftreten.

a. Der Staphylococcus pyogenes aureus.

Der Staphylococcus pyogenes aureus wurde zuerst (aus Abscessen) von J. Rosenbach[3]) reincultivirt. Der Coccus tritt als Kügelchen von durchschnittlich 0,7 μ Durchmesser auf. Die Kügelchen gruppiren sich gern zu weintraubenähnlichen (cf. p. 12) Zusammenlagerungen. Daher der Name „Staphylococcen"[4]). Auf Taf. III, Fig. 13, ist ein Präparat von Staphylococcus aureus dargestellt, welches die „Weintrauben" gut erkennen lässt.

Der Staphylococcus aureus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur.

---

lauge behandelte; die entstandene Lösung wurde dann mit Säuren gefällt. Die Präcipitate wurden wieder mit Kalilauge gelöst, wieder mit Säuren gefällt; und diese Procedur wurde so mehrmals wiederholt. Die so aus der Bakterienzelle extrahirten Eiweisskörper (Proteïne) wurden von Buchner (Münch. med. Wochenschr. 1891. No. 49) als „Alkaliproteïne" bezeichnet. Eine erheblich grössere Ausbeute an Proteïnen erzielte Buchner (ebenda) auf folgende Weise: Die von dem Nährboden abgestreifte Bakterienmasse wird bei 38° C. mehrere Tage lang getrocknet, dann mit dem 10fachen Gewicht (der ursprünglichen feuchten Bakterienmasse) heissem Wasser verrieben, dann auf dem Sandbad mit Rückflusskühler eine Stunde lang gekocht, endlich durch Kieselguhr filtrirt und nachher eingeengt. Durch absoluten Alcohol werden dann die Proteïne ausgefällt. Dieselben machen c. 25 bis 40% der angewandten trockenen Bakterienmasse aus. Die so dargestellten Proteïne sind leicht löslich in Wasser und werden durch schwaches Ansäuern der Lösung (im Gegensatz zu den „Alkaliproteïnen") nicht gefällt.

[1]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 47. p. 1087.

[2]) Berl. klin. Wochenschr. 1890. No. 47.

[3]) Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden 1884.

[4]) Dieser Name stammt von Ogston.

Auf der Gelatineplatte bildet er zunächst weisse, dann orangegelb werdende runde Colonien, die eine nur mässige Grösse erreichen und die Gelatine mässig schnell verflüssigen. Mikroskopisch erscheinen dieselben als scharfrandige, dunkle, grobkörnige Gebilde. In der Gelatinestichcultur ist das Wachsthum ein dem entsprechendes. Die oberen Theile des Impfstiches werden zunächst verflüssigt.

Auf der Agarplatte im Brütschrank bilden sich in 1 bis 2 Tagen Colonien aus, die an der Oberfläche des Nährbodens einen mehrere Millimeter betragenden Durchmesser erreichen und als saftige, orangegelbe Häufchen erscheinen.

Auf der Agaroberfläche (Strichcultur) bildet der Coccus einen feuchtglänzenden orangegelben Ueberzug; fand die Züchtung im Brütschrank statt, so erscheinen die Ränder der Cultur häufig weiss.

Auf der Kartoffeloberfläche entwickeln sich saftige gelbe Beläge.

Der Staphylococcus aureus ist ziemlich resistent gegen das Austrocknen und gegen die verschiedensten chemisch oder physikalisch wirkenden Desinfectionsmittel.

Mäuse, Meerschweinchen und Kaninchen sind durch cutane Impfung mit dem Coccus nicht zu inficiren; bei subcutaner Einverleibung entstehen gewöhnlich locale Abscesse, welche in Genesung übergehen. Injicirt man Kaninchen den Coccus in das Blut, so gehen die Thiere unter Auftreten eitriger Entzündungen, namentlich der Gelenke, sowie unter Bildung metastatischer eitriger Herde und Infarcte, namentlich in den Nieren, zu Grunde.

In den so häufig in unserer Haut auftretenden Furunkeln sowie in den durch Zusammenhäufung mehrerer Furunkel entstehenden eitrigen Carbunkeln findet sich der Staphylococcus aureus gewöhnlich. Er vermag, wie dies Garrè [1]) experimentell an sich selbst festgestellt hat, durch die unverletzte Haut einzudringen und eitrige Hautentzündungen zu erzeugen. Nach Garrè's Ansicht scheint die Infection hierbei ihren Weg durch die Ausführungsgänge der Hautdrüsen zu nehmen. Ausser dem Furunkel resp. Carbunkel verdankt auch das Panaritium seine Entstehung gewöhnlich der Infection mit dem Staphylococcus aureus. Damit ist aber die Rolle dieses Coccus in der menschlichen Pathologie nicht erschöpft. Bei [2]) den acuten (heissen) Abscessen sowie den (mehr circumscripten)

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1885, p. 170, 171.

[2]) Nach Baumgarten, Lehrbuch d. path. Mykologie. Braunschweig 1890. Bd. 1. p. 297 ff.

Phlegmonen der Haut, bei Impetigo, Sycosis, Blepharoadenitis, Conjunctivitis phlyctaenulosa findet er sich. Ferner wird er bei der acuten infectiösen Osteomyelitis ganz regelmässig gefunden. Dann findet er sich bei Lymphdrüseneiterungen, in Empyemen, bei Gelenk- und Schleimbeuteleiterungen, im Tonsillarabscess, in den eitrigen Secretpfröpfen bei Angina lacunaris, in Mammaabscessen, bei Parotiseiterungen, bei idiopathischer Cerebrospinalmeningitis, bei Strumitis, eitriger Peripleuritis, bei der sympathischen Ophthalmie. Zu bemerken ist, dass in den erwähnten Fällen auch andere Eitercoccenarten, namentlich der Staphylococcus albus, angetroffen werden können. Häufig sind Mischbefunde.

Uebrigens entsteht nicht in allen Fällen bei der Vermehrung des Staphylococcus pyogenes aureus im Körper Eiterung. So fand Goldscheider[1]) den genannten Mikroorganismus (wie auch den Streptococcus pyogenes) bei rein seröser Pleuritis.

Ausser in Fällen primärer resp. localer Eiterungen wird der Staphylococcus aureus auch als Erreger secundärer Eiterungen angetroffen. Allerdings spielt er in dieser Beziehung eine weniger hervorragende Rolle als der weiter unten zu betrachtende Streptococcus pyogenes.

Oben hatten wir schon gesehen, dass der Staphylococcus aureus, Kaninchen in die Blutbahn gebracht, metastatische Eiterungen veranlasst. Orth und Wyssokowitsch[2]) fanden dann, dass, wenn man den Kaninchen vor der Staphylococcusinjection in das Blut eine Verletzung der Herzklappen macht (durch Einführung eines Instrumentes in die Carotis), die Staphylococcen sich dann in dem verletzten Endocard ansiedeln und acute ulceröse Endocarditis veranlassen. Ribbert[3]) gelang die experimentelle Erzeugung dieser Affection auch ohne vorherige Klappenverletzung, und zwar gelang sie dadurch, dass er sehr kleine Kartoffelbröckchen den Thieren injicirte, die mit Staphylococcuscultur imprägnirt waren. Diese Thierversuche wurden angestellt, nachdem man beim Menschen in Fällen von ulceröser Endocarditis (die [nach Baumgarten] in den meisten Fällen wohl als Localisation eines von einem anderen Herde eingeleiteten Allgemeinleidens auftritt) Staphylococcen in den Klappenwucherungen nachge-

---

[1]) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. 21.
[2]) Centr. f. d. med. Wiss. 1885. No. 33. — Virch. Arch. Bd. 103. 1886.
[3]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 1.

wiesen hatte. Ebenso haben sich Staphylococcen später auch bei verrucöser Endocarditis auffinden lassen[1]).

Der Staphylococcus aureus färbt sich mit wässerigen Farblösungen; er färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

b. Der Staphylococcus pyogenes albus.

Der Staphylococcus pyogenes albus ist vielleicht nur als Varietät des Staphylococcus aureus aufzufassen. Er zeigt weisse, nicht gelbe Culturen, ist etwas weniger giftig für den Thierkörper als der Staph. aureus. Im Uebrigen gleicht er dem letzteren vollständig.

c. Der Streptococcus pyogenes.

Manche Eiterungen haben die Tendenz, sich auf dem Wege der Lymphbahnen fortzupflanzen, Lymphangitis, Lymphadenitis zu bewirken. Diese „phlegmonösen“ Eiterungen sind es, bei welchen der (von J. Rosenbach[2]) zuerst aus Eiter reincultivirte) Streptococcus pyogenes regelmässig angetroffen wird.

Handelt es sich hier häufig um local bleibende Ansiedlung des Streptococcus, die bei geeigneter (operativer) Behandlung oder auch ohne eine solche gelegentlich zur Heilung gelangt, so findet sich der Streptococcus pyogenes auf der anderen Seite auch, und zwar ausserordentlich häufig, als der Vermittler schwerer allgemeiner, metastatischer, eitriger Processe (Pyaemie), welche gewöhnlich mit dem Tode endigen (cf. oben p. 176). So sehen wir bei der puerperalen Pyaemie den Streptococcus im Blute kreisen, die Nierengefässe embolisiren und dort metastatische Eiterungen veranlassen; wir sehen ihn schwere Gelenkentzündungen bewirken, schwere acute Endocarditis veranlassen u. s. f. Die Infectionspforte kann hierbei eine ganz verschiedene sein. Bei der puerperalen Pyaemie geschieht der Eintritt der Streptococcen durch die offenstehenden Uterusgefässe. In vielen Fällen (z. B. bei Scharlach, wo wir sehr häufig „secundäre“ Infectionen durch Streptococcen auftreten sehen) dürfte die erkrankte (und dadurch wohl leichter durchgängige) Rachenschleimhaut als Infectionspforte fungiren.

Der Streptococcus pyogenes ist in seinem gesammten Verhalten in künstlichen Culturen und auch Thieren gegenüber

---

[1]) E. Fraenkel und Sänger, Virch. Arch. Bd. 108. 1887.

[2]) Mikroorganismen bei den Wundinfectionskrankheiten des Menschen. Wiesbaden (Bergmann) 1884.

durch nichts unterschieden von dem Streptococcus des Erysipels, den wir oben (p. 304) betrachteten. Er wird deshalb mit diesem jetzt ganz allgemein für identisch[1]) angesehen. Ein Photogramm des Streptococcus pyogenes bei 1000facher Vergrösserung zeigt Taf. III, Fig. 14.

Der Streptococcus pyogenes färbt sich (in Uebereinstimmung mit dem Streptococcus des Erysipels) auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.).

Neuere Untersuchungen über Streptococcen, welche wir namentlich v. Lingelsheim[2]), Kurth[3]), Behring[4]), Knorr[5]) verdanken, haben zu dem Resultat geführt, dass die in der Natur vorkommenden Streptococcen doch eine gewisse Classificirung gestatten. Nicht etwa, dass sich irgend welche durchgreifenden Unterschiede zwischen dem Streptococcus erysipelatos und dem Streptococcus pyogenes feststellen liessen; die Unterschiede bestehen in anderer Richtung. Cultivirt man nämlich Streptococcen in Bouillon, so findet man bei der mikroskopischen Untersuchung der entstehenden Vegetation meist, dass dieselbe aus sehr langen, vielgliedrigen Ketten besteht (cf. oben p. 305). In seltneren Fällen besteht die Vegetation aus ganz kurzen Streptococcenketten. v. Lingelsheim und Behring haben hiernach unterschieden zwischen Streptococcus longus und Streptococcus brevis.

Der letztere, der Streptococcus brevis, scheint in der Pathologie des Menschen keine oder nur eine sehr geringe Rolle zu spielen; auch für Thiere (Kaninchen und weisse Mäuse) zeigt er sich nicht pathogen. Er ist ausserdem durch makroskopisch sichtbares Wachsthum auf Kartoffeln und ferner dadurch von anderen Streptococcen unterschieden, dass er die Gelatine etwas verflüssigt.

Der Streptococcus longus hingegen ist es, welcher für die menschliche Pathologie so ausgedehnte Bedeutung hat. Innerhalb der Streptococcen, welche zu dem Streptococcus longus gerechnet werden müssen, eine weitere durchgreifende Differenzirung zu statuiren, hat

---

[1]) E. Fraenkel hat eine schlagend beweisende Illustration für diese Identität publicirt (Centralbl. f. Bakt. Bd. 6. 1889. No. 25). Er cultivirte aus peritonitischem Eiter in zwei Fällen Streptococcen, die, auf das Kaninchenohr cutan verimpft, typisches Erysipel erzeugten.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 10. 1891; Bd. 12. 1892.

[3]) Arb. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 7. 1891.

[4]) Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. No. 6.

[5]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 13. 1893.

sich bisher als unmöglich herausgestellt. Das aber muss betont werden, dass verschiedene Culturen des Streptococcus longus eine ganz verschiedene Virulenz besitzen können. Als Reagens hat sich in dieser Beziehung am brauchbarsten die weisse Maus erwiesen. Nach subcutaner Einverleibung kleiner Quantitäten sehr virulenter Bouilloncultur gehen diese Thiere nach 3 bis 4 bis 6 Tagen zu Grunde. Man findet Eiterung an der Infectionsstelle und eine durch die Streptococcen veranlasste Septicaemie; die Milz ist vergrössert. Ist die Virulenz geringer, so wird die Krankheitsdauer verlängert, und es können sich dann auch Eiterherde in den Organen finden. Der Tod tritt dann manchmal erst nach Wochen oder sogar Monaten ein. Es hat sich nun durchgehend eine gewisse Beziehung zwischen dem Virulenzgrade und dem Aussehen der Bouilloncultur constatiren lassen: Je mehr der Streptococcus longus die Neigung zeigt sich in seinen Vegetationen in der Nährbouillon zu fest verfilzten Haufen zusammenzuballen, desto mehr virulent ist er für weisse Mäuse. Für die sich fest zusammenballenden, sehr virulenten Streptococcen hat Kurth[1]) den Namen „Streptococcus conglomeratus" erfunden. Es muss aber nochmals darauf hingewiesen werden, dass die letztere Bezeichnung nicht etwa eine für sich abzugrenzende Art bedeutet.

Für Kaninchen sind die langen Streptococcen ebenfalls pathogen. Auch hier schwankt die Virulenz ausserordentlich. Bei subcutaner Einverleibung können die Thiere an schnell (in wenigen Tagen) verlaufender Septicaemie sterben, oder aber es kann sich auch ein längerer Krankheitsprocess an diese Infection anschliessen; stirbt das Thier dann nach Wochen, so findet man Eiterherde in den Organen, eitrige Pleuritis und Pericarditis etc. Bei cutaner Einverleibung bekommen die Kaninchen meist erysipelatöse Affectionen. Bei geringerer Virulenz des Impfmaterials kann die Entwickelung des Erysipels ausbleiben[2]). Es hat sich übrigens herausgestellt, dass eine Cultur, die für Kaninchen besonders virulent ist, deshalb nicht auch für Mäuse besonders virulent zu sein braucht, und umgekehrt.

---

[1]) Kurth fand solche Streptococcen ausschliesslich bei schweren Scharlachfällen.

[2]) v. Lingelsheim (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892. p. 317) konnte das Erysipel in solchen Fällen oft noch dadurch hervorrufen, dass er an der geimpften Stelle (er benutzte [cf. auch oben p. 305] das Ohr des Kaninchens) Kreislaufstörungen herstellte (Anbringung eines Collodium- oder Heftpflasterstreifens).

24. Die Bakterien der Pneumonie.

Die ersten Bakterienbefunde bei der Pneumonie wurden von Klebs (1875) erhoben[1]; dann folgte Eberth[2]; und Robert Koch[3]) war dann der Erste, welcher (1881) die in einem Falle von Pneumonie (nach Recurrens) in den Schnitten der Lunge und der Nieren aufgefundenen Bakterien photographisch fixirte. Friedländer[4]) wies dann in einer Reihe von Fällen croupöser Pneumonie in Schnitten des erkrankten Lungengewebes constant Coccen nach. In dem mit Hülfe der Pravaz'schen Spritze dem lebenden Pneumoniker entnommenen Lungensafte fanden dann Leyden und (eine Reihe von Monaten früher) der Verf. ebenfalls Mikrococcen. Auf Taf. XII, Fig. 68, gebe ich ein Photogramm desjenigen Präparates, welches ich damals (im Mai 1882) gewann.[5]) Friedländer hat später[6]) angegeben, dass ich damals zuerst die „Kapseln" der Pneumoniecoccen gesehen und (in einer Zeichnung) abgebildet habe. Ich möchte es jedoch für fraglich halten, ob die ungefärbten Räume, welche in diesem Präparate die Bakterien umgeben, für Bakterienhüllen, für Kapseln, angesehen werden dürfen; die Möglichkeit ist allerdings nicht direct abzuweisen.

Der Erste, welcher aus der pneumonischen Lunge Bakterien in Reincultur züchtete, war Friedländer. Friedländer bediente sich der Vortheile, welche der von Koch eingeführte feste Nährboden bietet, nur halb. Es wurden in seinen Culturversuchen keine Platten angelegt; überhaupt wurde keine Rücksicht darauf genommen, dass etwa verschiedene Bakterienarten in dem zu untersuchenden Materiale vorhanden sein könnten. Friedländer legte mit dem aus der kranken Lunge entnommenen Materiale directe Stichculturen in Gelatine an und erhielt auf diese Weise Culturen eines Organismus, den er zwar mit dem Namen „Pneumoniemikrococcus" belegte, der aber, wie sich in der Folge gezeigt hat, nur ganz ausserordentlich selten bei der Pneumonie vorkommt.

Wie nämlich A. Fraenkel[7]) und Weichselbaum[8]) gezeigt

---

[1]) Arch. f. exp. Path. Bd. 4.

[2]) Deutsches Arch. f. klin. Med. Bd. 28.

[3]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881.

[4]) Virch. Arch. Bd. 87.

[5]) Dieses Präparat habe ich im Verein für innere Medicin zu Berlin am 20. Nov. 1882 (Deutsche med. Wochenschr. 1883. p. 52) demonstrirt. Das Photogramm Taf. XII. Fig. 68, zeigt genau die damals demonstrirte Stelle.

[6]) Fortschr. d. Med. 1883. p. 719.

[7]) Verh. d. 3. Congr. f. inn. Med. 1884. — Zeitschr. f. kl. Med. Bd. 10 u. 11.

[8]) Wiener med. Jahrbücher. 1886.

haben, kommt der von Friedländer gezüchtete „Pneumoniemikrococcus“, welchen Weichselbaum seiner Form nach als „Bacillus pneumoniae“ bezeichnet hat, nur höchst selten bei der Pneumonie vor. Weichselbaum fand ihn in 83 Fällen von Pneumonie, in denen er Culturen anstellte, nur 6 Mal, während in der grössten Mehrzahl der Fälle (54 Mal) ein anderer Mikroorganismus gefunden wurde, den zuerst A. Fraenkel rein cultivirte, und den Weichselbaum als „Diplococcus pneumoniae“ bezeichnet. Aber auch der letztere stellt einen ganz constanten Befund nicht dar.

Es kommt übrigens bezüglich des Bakterienbefundes ganz darauf an, ob die Pneumonie eine genuine, primäre, oder ob sie eine accidentelle, secundäre ist. Während bei der ersteren in den allermeisten Fällen (wenn auch nicht constant) der Diplococcus pneumoniae gefunden wird, so trifft man bei den secundären Pneumonien ausser dem Diplococcus pneumoniae und ausser dem Bacillus pneumoniae unter Umständen auch den Streptococcus pyogenes, ja sogar den Staphylococcus pyogenes aureus an.

Ein einheitlicher Bakterienbefund existirt also bei der Pneumonie nicht.

Ausserdem ist auch die Rolle des am häufigsten gefundenen Organismus, des Diplococcus pneumoniae, mit dem Vorkommen bei der Pneumonie durchaus nicht erschöpft. Man hat ihn z. B. bei Otitis media (Zaufal, Weichselbaum), bei epidemischer Cerebrospinalmeningitis (Foà und Bordoni-Uffreduzzi, Weichselbaum) wie auch bei sporadischer eitriger Meningitis (Weichselbaum, Ortmann, Zörkendörfer), ferner bei primärer Nephritis (Mircoli), bei ulceröser Endocarditis (Weichselbaum) nachgewiesen; und es ist Weichselbaum auch gelungen, bei Kaninchen nach vorhergehender Verletzung der Herzklappen (cf. p. 310) durch intravenöse Einverleibung des Diplococcus pneumoniae Endocarditis experimentell hervorzurufen. Auch bei primärer multipler Gelenkentzündung ist der genannte Mikroorganismus gefunden worden (Boulloche).

Der Diplococcus pneumoniae wird auch bei einzelnen ganz gesunden Menschen ganz constant in der Mundhöhle angetroffen; es giebt Menschen, deren Mundflüssigkeit, Kaninchen subcutan injicirt, die Thiere an derselben Septicaemie („Sputumsepticaemie“) zu Grunde gehen lässt, die nach Injection virulenter Reincultur des Diplococcus pneumoniae (cf. p. 317) entsteht.[1])

[1]) W. D. Miller (The human mouth as a focus of infection. Dental-Cosmos.

Aus dem Dargelegten geht hervor, dass von einer völligen Klarheit hinsichtlich der Entstehungsursache der Pneumonie keine Rede ist. Besonders fehlen auch überzeugende Thierversuche, welche die Pneumonie veranlassende Eigenschaft des einen oder des anderen Mikroorganismus darthun, noch völlig.

Der Diplococcus pneumoniae sowohl wie der Bacillus pneumoniae sind im Uebrigen für Thiere pathogen.

Wir wollen in Folgendem die Eigenschaften beider Organismen in Kürze darstellen.

a. Der Diplococcus pneumoniae.

Der Diplococcus pneumoniae (Pneumoniemikrococcus A. Fraenkel, Mikrococcus der Sputumsepticaemie, Diplococcus lanceolatus, lanzettförmiger Diplococcus, Meningococcus, Streptococcus lanceolatus Pasteuri) wird häufig in dem pneumonischen Lungensafte, ferner bei Affectionen, welche sich secundär an eine bestehende Pneumonie anschliessen (Pleuritis, Pericarditis, Peritonitis, Meningitis, Endocarditis etc.) angetroffen. Im pneumonischen Sputum findet er sich gewöhnlich; er kommt aber auch im normalen Sputum ganz gesunder Menschen vor [1]).

Der Diplococcus pneumoniae ist vielleicht nicht eigentlich zu den Mikrococcen zu rechnen. Seine meist zu zweien zusammen auftretenden Individuen sind gewöhnlich etwas in die Länge gezogen und an den Enden deutlich lanzettförmig zugespitzt (cf. das typische Photogramm [2]) Fig. 68 auf Taf. XII); gelegentlich findet sich der Organismus auch in kürzeren oder längeren Ketten angeordnet [3]).

Der Diplococcus pneumoniae ist unbeweglich. Im Gewebe liegend (in der pneumonischen Lunge des Menschen oder in den Organen von Versuchsthieren) zeigt sich der Diplococcus von einer deutlichen Kapsel (p. 314) umgeben. In künstlichen Culturen zeigt der Organismus keine Kapseln.

Sept.—Nov. 1891) unterscheidet vier verschiedene (für weisse Mäuse pathogene) Arten von „Micrococcus of Sputum Septicaemia“, die in der Mundhöhle gesunder Menschen gefunden wurden. — Bezüglich der anderen in der menschlichen Mundhöhle vorkommenden pathogenen Bakterienarten verweise ich auf das Werk von Miller: Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig (G. Thieme). 2. Aufl. 1892. p. 293 ff.

[1]) Die erste derartige Mittheilung (aus dem Jahre 1880) stammt von Sternberg (cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 12. 1892. p. 53).

[2]) Vergl. p. 314, Anm. 5.

[3]) Kruse und Pansini (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892. p. 283) finden, dass bezüglich der Form des Diplococcus pneumoniae alle Uebergänge von der typischen Gestalt des Diplococcus lanceolatus bis zu der des Streptococcus pyogenes vorkommen.

Der Diplococcus pneumoniae wächst auf den künstlichen Nährböden, aber nur bei höherer Temperatur. Unter 22° C. kommt ein Wachsthum nicht zu Stande. Am besten wächst er bei etwa 35° C. Die Nährböden müssen schwach alkalisch sein. Auf der Oberfläche von Agar und von Blutserum bildet der Diplococcus pneumoniae äusserst feine, wie aus einzelnen Thautröpfchen zusammengesetzt erscheinende Ueberzüge, welche an Erysipelcoccenculturen erinnern (cf. oben p. 305). Agarculturen sterben gewöhnlich schon in wenigen Tagen ab, nachdem sie zunächst ihre pathogenen Eigenschaften für Thiere (siehe weiter unten) verloren haben. Etwas haltbarer sind Bouillonculturen. Im angetrockneten Auswurf des Pneumonikers bleibt der Diplococcus pneumoniae lange Zeit lebensfähig und virulent[1]).

Der Diplococcus pneumoniae ist für unsere Versuchsthiere, namentlich für Kaninchen, aber auch für Meerschweinchen und Mäuse, pathogen. Macht man einem Kaninchen mit einer frischen virulenten Bouilloncultur eine Injection unter die Haut, so geht das Thier in 1 bis 2 Tagen an einer typischen Septicaemie (cf. oben p. 175) zu Grunde. Die Milz ist stark geschwollen. Ratten sind wenig empfänglich für die Infection, Hühner und Tauben unempfänglich: ebenso fanden Kruse und Pansini[2]) ein Schaf und ein Pferd unempfänglich.

Ueber Immunisirung der so hoch empfänglichen Kaninchen gegen die Infection hat zuerst Foà[3]) berichtet; die Immunisirung gelang durch Einverleibung der löslichen Culturproducte des Diplococcus. Emmerich und Fowitzky[4]) erreichten eine complete Immunität der Kaninchen durch intravenöse Injection stark verdünnter vollvirulenter Culturen des Diplococcus. Mit den Körpersäften so immunisirter Kaninchen vermochten die Autoren bei der Maus Heilung der specifischen Infection zu bewirken. G. und F. Klemperer[5]) haben eine ganze Reihe von Methoden angegeben, mit Hülfe deren man Kaninchen gegen die Infection mit dem Diplococcus pneumoniae zu immunisiren vermag. In dem Blutserum genesener Pneumoniker wiesen die Autoren thierimmunisirende Stoffe nach (cf. oben p. 189).

---

[1]) cf. Bordoni-Uffreduzzi, Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. 1891. No. 10; auch Archivio per lo scienze med. vol. 15. 1891.

[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 11. 1892.

[3]) Accad. di med. di Torino. 6 dicembre 1890. — Il Policlinico. 1890. No. 18. p. 547.

[4]) Münch. med. Wochenschr. 1891. No. 32.

[5]) Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 34, 35.

Der Diplococcus pneumoniae färbt sich mit den gewöhnlichen wässerig-alcoholischen Farbstofflösungen; hier wird der Protoplasmakörper dunkel gefärbt, während die Kapsel nur eine ganz geringe Färbung annimmt. Der Organismus färbt sich auch nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.); bei der letzteren bleibt aber nur der Protoplasmakörper gefärbt, während sich die Kapsel vollständig entfärbt.

b. Der Bacillus pneumoniae.

Der Bacillus pneumoniae (Pneumoniemikrococcus [Pneumococcus] Friedländer) wird in seltenen Fällen bei der menschlichen Pneumonie gefunden, und zwar hier entweder allein oder mit anderen Mikroorganismen zusammen. Er ist auch bei anderen Affectionen (bei Schnupfen im Nasensecret, bei Otitis media acuta) gefunden worden.

Der Bacillus pneumoniae unterscheidet sich sofort durch seine erheblichere Grösse von dem Diplococcus pneumoniae. Man vergleiche hierzu die beiden Photogramme Fig. 68 und Fig. 69 (Taf. XII), die beide bei 1000facher Vergrösserung aufgenommen sind. Fig. 69 entstammt einem Präparate, welches von dem Pleurasafte einer nach intrapleuraler Infection mit dem Bacillus pneumoniae gestorbenen Maus hergestellt wurde[1]). Man sieht an dem Bilde sehr schön die ausgeprägte Kapselbildung bei diesem Organismus. Uebrigens werden die Kapseln auch hier (wie bei dem Diplococcus pneumoniae) nur innerhalb des thierischen (resp. menschlichen) Organismus gebildet. Die Länge des Bacillus ist verschieden. Eigenbewegung ist nicht vorhanden.

Der Bacillus pneumoniae wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden, und zwar sowohl bei Zimmertemperatur wie bei Brüttemperatur.

Auf der Gelatineplatte bilden sich weisse Colonien, welche, an die Oberfläche des Nährbodens gelangend, sich als dicke, halbkugelige, porcellanartig glänzende weisse Knöpfchen über der Gelatine erheben. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. In der Stichcultur kommt in der gesammten Ausdehnung des Impfstiches Wachsthum zu Stande; es bildet sich eine weisse Wucherung, die sich auf der Oberfläche (ähnlich wie bei der Plattencultur) besonders kräftig entwickelt und hier als dicker, halbkugeliger, nagelkopfähnlicher („Nagel-

---

[1]) Das Präparat stammt aus dem Januar 1885. Die Maus war von Friedländer persönlich mit einer seiner Originalculturen inficirt worden.

cultur" Friedländer), glänzend weisser Belag erscheint. Alte Gelatineculturen zeigen die Gelatine etwas braun gefärbt.

Auf der Agaroberfläche bildet sich ein weisslicher Belag. Auf Kartoffeln entwickeln sich gelblich-weisse Auflagerungen, in denen, namentlich bei Brüttemperatur, Gasblasenbildung auftritt.

Traubenzuckerlösungen werden durch den Bacillus unter Entbindung von Kohlensäure und Wasserstoff vergohren. Hierbei entsteht namentlich Aethylalcohol und Essigsäure.

Sporenbildung ist nicht beobachtet.

Die Culturen des Bacillus pneumoniae sind viel dauerhafter als die des Diplococcus pneumoniae. Noch nach Monaten zeigen sie sich lebensfähig.

Der Bacillus pneumoniae ist für Mäuse, ferner auch für Hunde, weniger für Meerschweinchen, pathogen. Für Kaninchen ist er (zum Unterschiede von dem Diplococcus pneumoniae) nicht pathogen. Brachte Friedländer empfänglichen Thieren die Cultur intrapleural oder intraabdominell bei, oder liess er die Thiere verstäubte Cultur inhaliren, so gingen sie zu Grunde. Es zeigte sich starke Vermehrung der eingeführten Bakterien in der Pleurahöhle resp. in der Bauchhöhle; ferner waren die Organismen im Blute und in den inneren Organen zu finden. In einzelnen Fällen bildeten sich auch pneumonische Processe aus.

Der Bacillus pneumoniae färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.). Im Uebrigen verhält er sich hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (cf. p. 318).

25. Der Bacillus des Rhinoscleroms.

Das „Rhinosclerom" wurde zuerst von Hebra (1870) als selbständiges Krankheitsbild beschrieben; v. Frisch wies (1882) zuerst das constante Vorkommen von Bacillen in den rhinosclerotischen Partien nach. Cornil und Alvarez entdeckten (1885) „Kapselbildung" an diesen Bacillen.

Paltauf und v. Eiselsberg[1]) züchteten die „Rhinosclerombacillen" in Reincultur. Dieselben sind sowohl in dem Culturverhalten wie in dem Verhalten gegen Versuchsthiere dem Friedländer'schen Bacillus pneumoniae sehr ähnlich[2]). Nur die

---

[1]) Fortschr. d. Med. 1886. No. 19 u. 20.

[2]) Die Rhinosclerombacillen sollen sich im Gegensatz zu den Friedländer'schen Organismen nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färben lassen (Zagari, Dittrich, V. Babes).

Virulenz erschien bei den Rhinosclerombakterien etwas geringer als bei den Friedländer'schen. Rhinosclerom experimentell damit zu erzeugen gelang nicht.

26. Der Influenzabacillus.

Bei Gelegenheit der Influenzaepidemie des Winters 1891/92 hat R. Pfeiffer[1]) an einem grösseren Krankenmaterial den Nachweis geführt, dass der katarrhalischen Influenza, d. h. derjenigen Form der Influenza, bei der in erster Linie die Luftwege erkrankt sind, eine bestimmte wohlcharacterisirte Bacillenart eigenthümlich ist. Diese Bacillenart, „Influenzabacillus", findet sich constant und ausschliesslich bei Influenza; der Bacillus darf deshalb als der Erreger der katarrhalischen Influenza angesehen werden[2]).

Wir haben uns die katarrhalische Influenza als einen sich primär in den Luftwegen abspielenden Krankheitsprocess vorzustellen. In leichten Fällen kann diese locale Affection die Schleimhaut des Nasenrachenraumes allein betreffen; der Process geht aber gewöhnlich auf die Trachea und die Bronchien über und kann in schwersten Fällen zu der (lobulären) Influenzapneumonie führen. In jedem Falle findet man in dem die erkrankte Schleimhaut bedeckenden Secret die specifischen Stäbchen. Dieselben liegen in frischen, fiebernden Fällen meist frei im Schleim; in der Reconvalescenz zeigen sie sich vielfach im Innern von Eiterzellen eingeschlossen. Bei der Vermehrung der Stäbchen an Ort und Stelle wird ohne Zweifel ein Gift gebildet, welches in den Körper hineingelangt und die schweren, der Influenza eigenthümlichen Allgemeinsymptome verursacht. Die Stäbchen finden sich in dem (gelbgrünlichen, zähschleimigen) Sputum der Influenzakranken; sie sind um so mehr von begleitenden Bakterien frei, aus je tieferen Stellen der Luftwege das Sputum stammt. Bei der Section von Fällen, die auf der Höhe der Krankheit verstorben sind, findet man die Influenzastäbchen in dem Inhalte der erkrankten kleinen Bronchien in Reincultur.

Der Influenzabacillus ist ein sehr kleines, dünnes Stäbchen (kürzer und dünner als der Bacillus der Mäusesepticaemie) mit abgerundeten Enden. Eigenbewegung fehlt. Die Stäbchen

---

[1]) Pfeiffer, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 2; Pfeiffer und Beck, ebenda 1892. No. 21; Pfeiffer, Zeitschr. für Hyg. Bd. 13. 1893.

[2]) Ueber die Aetiologie der „gastrischen" und der „nervösen" Influenza ist noch nichts ermittelt.

liegen meist einzeln oder zu zweien mit einander verbunden (Theilungsvorgänge). In gefärbten Präparaten zeigen sich häufig die Endpole der Stäbchen gefärbt, während die Mitte ungefärbt ist.

Der Bacillus ist streng aërob. Er lässt sich künstlich bei Brüttemperatur züchten; das Temperaturminimum liegt bei etwa 26 bis 27° C., das Temperaturmaximum bei 42° C.

Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen bakteriologischen Nährböden durchaus gar nicht; dagegen erhält man einen ausgezeichneten Nährboden für diesen Organismus, wenn man frisches Blut auf die Agarfläche aufstreicht. Es eignet sich zu diesem Zwecke Blut von Menschen, Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben, Fröschen. Ein ganz besonders üppiges Wachsthum erhält man auf Taubenblut-Agar[1].

Ueberträgt man das bronchiale Sputum des Influenzakranken oder den bei der Section entnommenen Inhalt der erkrankten Bronchien — am besten, nachdem man das Material zunächst mit Bouillon zu einer dünnen Aufschwemmung verrieben hat — auf Blutagar, so bilden sich binnen 24 Stunden im Brütschrank Colonien des Influenzabacillus. Dieselben erscheinen als dicht gedrängt stehende, wasserhelle Tröpfchen; meist sind sie so klein, dass man behufs ihrer deutlichen Erkennung die Loupe zu Hülfe nehmen muss. Mikroskopisch erscheinen die Colonien structurlos. Andere Nährböden (gewöhnliches Agar, Glycerin-Agar, Blutserum etc.), welche man in derselben Weise beimpft, bleiben (bei ausschliesslicher Anwesenheit von Influenzabacillen) durchaus steril. Die Eigenschaft, ausschliesslich auf hämoglobinhaltigen Nährböden zu wachsen, ist dem Influenzabacillus eigenthümlich und kann zur Unterscheidung desselben von anderen Bakterienarten benutzt werden. Mikroskopisch ist eine Differentialdiagnose von ähnlichen Bakterienarten nicht mit Sicherheit möglich.

Auf dem Blutagar lassen sich die Influenzabacillen in beliebig vielen Generationen fortzüchten. Die einzelnen Culturen bleiben bis zu mehreren Wochen lebensfähig. Durch die wiederholte Umzüchtung verlieren die Influenzabacillen ihre Eigenschaft, ausschliesslich auf Blutagar zu gedeihen, nicht.

Im Blut des Influenzakranken wurden die Influenzabacillen mi-

---

[1]) Die mit dem Blut bestrichenen Agarröhrchen stellt man vor der Aufimpfung des Influenzamaterials zweckmässig 24 Stunden lang in den Brütschrank, um sie auf ihre Sterilität zu prüfen.

kroskopisch von Canon[1]) festgestellt. Sie scheinen sich aber ganz ausserordentlich selten und spärlich im Blute vorzufinden.

Gegen Austrocknung (und ebenso gegen andere schädigende Einflüsse) ist der Influenzabacillus ganz ausserordentlich empfindlich. Im feuchten Zustande, z. B. in Influenzasputum, welches vor Austrocknung bewahrt bleibt, kann er wahrscheinlich wochenlang entwickelungsfähig bleiben. Sporenbildung existirt nicht.

Von Versuchsthieren hat sich nur bei Affen eine der katarrhalischen Influenza des Menschen ähnliche Affection (durch intratracheale Injection der Reincultur) erzielen lassen. Gegen das specifische Gift, welches in den Culturen enthalten ist, zeigen sich Kaninchen sehr empfindlich. Die Thiere bekommen nach der Einverleibung desselben Dyspnoe und lähmungsartige Schwäche der Musculatur.

Die natürliche Infection des Menschen geschieht bei der katarrhalischen Influenza ohne Zweifel durch Inhalation der Erreger.

Der Influenzabacillus färbt sich mit den gewöhnlichen Farbstofflösungen. Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färbt er sich nicht.

27. Der R. Pfeiffer'sche Kapselbacillus.

R. Pfeiffer[2]) fand in der Bauchhöhle eines spontan gestorbenen Meerschweinchens ein zähes eiterartiges Exsudat, welches sich mikroskopisch aber nicht aus Eiterzellen bestehend erwies, sondern die Reincultur eines Bacillus darstellte, der sich auch in dem Blute der Leiche vorfand. Es ist dies ein plumper Bacillus mit abgerundeten Enden, der schöne ovale Kapseln besitzt („Bacillus capsulatus“).

Der Bacillus ist ohne Eigenbewegung. Er wächst auf den gemeinen Nährböden, bei Brüttemperatur besser als bei Zimmertemperatur, bildet bei dem Einstich in Gelatine glänzend weisse „Nagelculturen“ wie der Friedländer'sche Bacillus (cf. p. 318). Der Bacillus ist facultativ anaërob, bildet innerhalb der Gelatine (geruchloses) Gas. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf der Agaroberfläche bilden sich dicke, saftige, weisse, fadenziehende Ueberzüge, auf der Kartoffel gelblich-weisse, fadenziehende Beläge.

Sporenbildung wurde nicht constatirt.

---

[1]) Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 2. — Virch. Arch. Bd. 131. 1893.
[2]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 6. 1889.

Für weisse Mäuse und Hausmäuse ist der Bacillus sehr pathogen. Nach subcutaner Impfung sterben die Thiere innerhalb von 2 bis 3 Tagen. Die Milz der gestorbenen Thiere ist stark geschwollen. Ueberall im Blute und in den Organen finden sich die Bacillen, mit schönen Kapseln versehen. Meerschweinchen und Tauben sowie Kaninchen sind ebenfalls empfänglich für die Infection. Meerschweinchen und Tauben lassen sich aber nur vom Peritoneum aus, Kaninchen nur durch intravenöse Einverleibung grösserer Mengen der Cultur inficiren. Die Körper der gestorbenen Thiere verfallen rascher postmortaler Zersetzung. Das Blut und die Gewebssäfte sind fadenziehend.

Ber Bacillus färbt sich nicht nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.), verhält sich sonst hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (p. 318).

28. Der Micrococcus tetragenus.

Der Micrococcus tetragenus wurde von Koch[1]) in einer phthisischen Lungencaverne entdeckt. Gaffky[2]) studirte ihn näher und constatirte seine pathogenen Eigenschaften für manche Versuchsthiere. Der Organismus wurde dann von Biondi[3]) auch in normalem menschlichen Speichel vorgefunden.

Der Coccus bietet, aus dem thierischen Organismus entnommen, die Eigenthümlichkeit dar, dass er meist in Gruppirungen zu je vier Exemplaren auftritt, die von einer gemeinsamen Hülle, Kapsel, umgeben sind. In Figur 67 auf Taf. XII, welche nach einem Ausstrichpräparate der Milz der an der Tetragenus-Infection gestorbenen Maus aufgenommen ist, sieht man diese Gruppirung und auch die Hüllenbildung deutlich.

Der Micrococcus tetragenus gedeiht, am besten bei Sauerstoffanwesenheit, auf den gewöhnlichen Nährböden. Auf der Gelatineplatte werden weisse, glänzende, über die Oberfläche kuppenförmig prominirende Colonien gebildet. Die Gelatinestichcultur entwickelt sich sowohl längs des Impfstiches wie auf der Oberfläche; es bilden sich weisse, auf der Oberfläche glänzende Wucherungen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Auf Agar entstehen weisse Ueberzüge; auf der Kartoffel bilden sich schleimige, fadenziehende Beläge.

---

[1]) Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 2. 1884. p. 33.
[2]) Langenb. Arch. Bd. 28.
[3]) Zeitschr. f. Hyg. Bd. 2. 1887.

Der Micrococcus tetragenus ist für weisse Mäuse und Meerschweinchen pathogen; graue Mäuse und Feldmäuse verhalten sich fast stets immun, Kaninchen und Hunde sind nicht zu inficiren. Die empfänglichen Thiere erkranken nach subcutaner Einverleibung und gehen (Mäuse nach 3 bis 6 bis 8 Tagen) an einer Septicaemie (cf. p. 175) zu Grunde. Wahrscheinlich vermag der Micrococcus tetragenus auch in der menschlichen Pathologie, speciell als Eiterungserreger, eine Rolle zu spielen[1]).

Der Micrococcus tetragenus färbt sich nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.). Im Uebrigen verhält er sich hinsichtlich der Färbbarkeit seines Protoplasmakörpers und seiner Kapsel wie der Diplococcus pneumoniae (cf. p. 318).

29. Die Spirochaete des Recurrensfiebers.

Bei dem Rückfallfieber (Typhus recurrens) wurde durch Obermeier[2]) (1873) das constante Vorkommen sehr beweglicher Spirillen (Spirochaete Obermeieri) im Blute festgestellt. Die Spirillen (cf. Taf. XII, Fig. 70), welche ziemlich grosse Gebilde mit spitz zulaufenden Enden sind, finden sich nur während der Fieberanfälle, nicht während der Apyrexie. Nur ein einziger Fall ist (von Naunyn[3]) beschrieben, in welchem sich auch während der fieberfreien Stadien Spirillen im Blute vorfanden (wenn auch spärlicher als während des Fiebers).

Die Spirillen des Rückfallfiebers künstlich zu züchten ist bis jetzt nicht gelungen. Sporenbildung ist nicht bekannt. Wie Pasternatzky[4]) fand, halten sich die Recurrensspirillen in dem Körper des bei 0° C. gehaltenen Blutegels[5]) bis zu 10 Tagen lebend.

Von Versuchsthieren hat sich nur der Affe für die Infection mit Febris recurrens zugängig gezeigt. Der Affe erkrankt, wie Koch[6]) und Carter[7]) festgestellt haben, nach Einimpfung spirillenhaltigen

---

[1]) cf. Steinhaus, Zeitschr. f. Hyg. Bd. 5. 1889; Kapper, Wien. med. Presse. 1890. No. 27.

[2]) Centralbl. f. d. med. Wissensch. 1873. No. 10. — Berl. klin. Wochenschr. 1873. No. 35.

[3]) Mitth. a. d. med. Klinik zu Königsberg i. Pr. 1888.

[4]) cf. Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. p. 198.

[5]) Der Blutegel wird, nachdem er sich an dem fiebernden Recurrenskranken vollgesogen hat, auf Eis gelegt.

[6]) Deutsche med. Wochenschr. 1879. No. 25. p. 327. — Mitth. a. d. Kais. Ges.-Amte. Bd. 1. 1881. p. 167—168.

[7]) cf. Deutsche med. Wochenschr. 1879. No. 16. p. 189.

Recurrensblutes an typischer Recurrens. Die Incubationsdauer beträgt beim Affen durchschnittlich $3\,^1/_2$ Tage. Der Affe bekommt nur einen Fieberanfall; Rückfälle wie beim Menschen werden bei der Recurrensinfection des Affen nicht beobachtet[1]. Auch beim Menschen hat sich nach Einimpfung spirillenhaltigen Recurrensblutes Recurrens künstlich erzeugen lassen.

Das Recurrensspirillum zeigt sich der Färbung mit den gebräuchlichen basischen Anilinfarben zugänglich. Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färbt es sich nicht. Eine fast isolirte Färbung der Recurrensspirillen in Blutpräparaten erhält man mit Hülfe einer speciell für diagnostische Zwecke zu empfehlenden Methode, die der Verf.[2] 1885 angegeben hat, und die bereits oben (p. 71) besprochen wurde.

30. Der Actinomyces.

Der Actinomyces (Actinomyces bovis s. hominis, Strahlenpilz)[3] wurde (beim Menschen) im Jahre 1845 in Kiel von B. v. Langenbeck entdeckt. Die Entdeckung wurde zugleich mit den Langenbeck'schen Zeichnungen erst im Jahre 1878 durch James Israël[4] publicirt, dem das Verdienst gebührt, den Strahlenpilz zuerst als einen selbständigen, für den Menschen pathogenen Organismus erkannt zu haben.

Der Actinomyces ist beim Rind zu Hause. Beim Rind wurde der Pilz zuerst (1877) von Bollinger[5] gesehen. Der Pilz giebt hier Veranlassung zur Entstehung in der Kiefergegend sitzender Geschwülste, welche die Tendenz haben zu abscediren. Auf dem Durchschnitt zeigen diese Geschwülste grössere oder kleinere Hohlräume, in welchen kleine gelbe Körner enthaltender Eiter vorhanden ist. Diese Körner zeigen mikroskopisch gewöhnlich eine strahlige, drusige Structur („Strahlenpilz"). Die einzelnen Strahlen zeigen an den Enden häufig eine keulenförmige Anschwellung. Das Photogramm Taf. XII, Fig. 71, giebt ein Bild einer solchen Druse. Damit ist aber die mikroskopische Erscheinungsweise des Actinomyces nicht erschöpft. Man findet auch fädige, an Bacillenfäden erinnernde

---

[1] Entmilzte Affen gehen an der Infection in circa 7 bis 8 Tagen zu Grunde und zeigen erstaunliche Mengen von Spirillen im Blut (Soudakewitch, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1891. No. 9).

[2] Fortschr. d. Med. 1885. p. 755.

[3] Die Bezeichnung „Actinomyces" stammt von dem Münchener Botaniker Harz.

[4] Virch. Arch. Bd. 74. 1878.

[5] Centralbl. f. d. med. Wiss. 1877. No. 27.

Bildungen, ferner „Coccenhaufen"; kurz: ein sehr pleomorphes Bild. Ob alle diese Dinge genetisch zusammengehören, müssen erst noch weitere Untersuchungen lehren; es ist diese Zusammengehörigkeit jedoch nicht unwahrscheinlich.

Der Actinomyces ist auf den Menschen leicht übertragbar. Er siedelt sich unter Anderem gern in hohlen Zähnen an, kann dann zur Entstehung von abscedirenden Kiefergeschwülsten Veranlassung geben, aber auch zu Actinomykose innerer Organe (Lunge, Pleura, Peritoneum, Leber, Nieren, Darm, Herz, Gehirn) führen. Die Erkrankung der Organe kann eine primäre und eine metastatische sein. Sie führt häufig zum Tode.

Die Infection scheint in zahlreichen Fällen — und zwar sowohl beim Rinde wie beim Menschen — durch Getreidegrannen vermittelt zu werden, welche (in noch unbekannter Weise) draussen in der Natur mit dem Pilze inficirt werden.

Culturversuche mit dem Actinomyces sind von verschiedenen Seiten unternommen worden. Speciell gelang es J. Israël und M. Wolff[1]) Culturen des Pilzes auf Agar (ausschliesslich unter Sauerstoffabschluss) und innerhalb von rohen oder gekochten Hühner- und Taubeneiern zu erhalten, dieselben in verschiedenen Generationen weiter zu züchten und durch Uebertragung der so erhaltenen Culturen Versuchsthiere erfolgreich mit Actinomykose zu inficiren. Die Uebertragungsfähigkeit der Culturen bleibt viele Monate lang erhalten.

Auf der Agaroberfläche bildet der Actinomyces nach Israël und Wolff kleine, langsam wachsende, meist bis höchstens stecknadelknopfgross werdende, nicht confluirende, thautropfenähnliche Knötchen, welche aus kurzen Bacillen ähnlichen, geraden oder leicht gekrümmten Gebilden zusammengesetzt sind. In Eiern bilden sich gewöhnlich prachtvolle lange Fadennetze aus. In Bouillon ist das Wachsthum nicht sehr ergiebig. Niemals werden auf künstlichen Nährsubstraten Drusen mit keulenartigen Gebilden beobachtet.

Die Uebertragung der Stäbchenculturen in die Bauchhöhle von Kaninchen (und auch von Meerschweinchen) giebt nach Israël und Wolff Veranlassung zur Entwickelung typischer Actinomycesdrusen, welche, eingebettet in Lagern von Rundzellen, in hirsekorn- bis pflaumengrossen, den verschiedensten Organen der Bauchhöhle aufsitzenden Tumoren liegen. Die Versuchsthiere (welche zur Feststellung

---

[1]) 19. Congr. d. Deutschen Gesellsch. f. Chirurgie. Berlin, April 1890. — Virch. Arch. Bd. 126. 1891.

der geschilderten pathologischen Veränderungen getödtet werden müssen) erscheinen intra vitam nicht auffallend krank.

Ob der Actinomyces zu den Bakterien zu rechnen ist, ist noch nicht mit Sicherheit ausgemacht.[1])

Der Actinomyces färbt sich sehr gut nach der Gram'schen Methode resp. nach der vom Verf. angegebenen Modification dieser Methode (p. 100 ff.).

Mit dem vorstehend besprochenen Actinomyces bovis s. hominis nicht identisch ist ein eigenthümlicher Parasit, welcher in ähnlichen strahligen Formen auftritt wie der genannte Actinomyces, welcher aber ausschliesslich im Schweinemuskel gefunden wird. Derselbe wurde 1884 von Duncker[2]) entdeckt. Er hat den Namen „Actinomyces musculorum suis“ erhalten. Es ist aber bis jetzt noch nicht mit Sicherheit entschieden, ob dieser Parasit in irgend welchen verwandtschaftlichen Beziehungen zu dem Actinomyces bovis s. hominis steht.

Ueber einen dem Actinomyces bovis sehr ähnlichen, für Kaninchen pathogenen und bei diesen Thieren häufig auch actinomycesähnliche Drusen erzeugenden Mikroorganismus, „Micromyces Hofmanni“, hat Gruber[3]) berichtet.

---

[1]) J. Israël und M. Wolff rechnen ihn zu den „pleomorphen Bakterienarten.“

[2]) Zeitschr. f. Mikrosk. u. Fleischbeschau. 1884. No. 3.

[3]) 7. internat. Congr. f. Hyg. u. Demogr. London 1891. — Centralbl. f. Bakt. Bd. 10. p. 648.

Anhang.



Ausser den Bakterien treten auch anderen Mikroorganismengruppen angehörige Gebilde, sowohl pflanzliche wie thierische, als Krankheitserreger auf. Unter diesen wollen wir einestheils die pathogenen Schimmel- oder Fadenpilze, anderntheils die pathogenen Protozoën noch einer kurzen Betrachtung unterwerfen.

Die pathogenen Schimmelpilze.

Was die Schimmel- oder Fadenpilze anlangt, so kennt man bereits eine Anzahl Arten, welche das Vermögen haben, sich innerhalb des thierischen Körpers und auf Kosten desselben zu vermehren. Hierher gehören vor Allem mehrere Aspergillus- und Mucor-Arten, ferner einige Arten aus der Gruppe der Oïdien.

Botanisch unterscheiden sich, wie hier kurz bemerkt sein mag, die genannten Pilzgattungen durch die Art und Weise der Fructification (Sporenbildung). Während nämlich bei den Mucorarten der sich aus dem Mycelgeflecht erhebende Fruchtträger (die Fruchthyphe) eine besondere Kapsel, ein „Sporangium", trägt, in welchem sich die Sporen (Conidien) entwickeln, bildet sich bei den Aspergillusarten an dem Ende des Fruchtträgers eine kolbige Verdickung, auf deren Oberfläche durch Vermittelung kleiner Zwischenfruchtträger (Sterigmen) die Sporenreihen befestigt sind; bei den Oïdiumarten werden die Sporen direct an dem Fruchtträger (der Fruchthyphe) ohne Dazwischentreten eines besonderen Fruchtkopfes abgegliedert.[1])

---

[1]) „Aspergillus" ist übrigens keine selbständige Gattung; es hat sich herausgestellt, dass die Aspergillusform nur eine besondere Fructificationsform der (zu der Ordnung der Ascomyceten gehörigen) Gattung Eurotium ist. — Ebenso ist „Oïdium" keine selbständige Gattung, sondern nur die Conidienform von Arten, welche zu der Gattung Erysiphe (ebenfalls aus der Ordnung der Ascomyceten) gehören.

Unter den zu den Gattungen Aspergillus und Mucor gehörenden Pilzen sind für Thiere pathogen vor Allem der Aspergillus fumigatus, dann der Aspergillus flavescens, ferner der Mucor corymbifer und der Mucor rhizopodiformis. Die intravenöse Injection einer Sporenaufschwemmung einer jeden dieser Arten hat, wenn nicht zu wenig Sporen eingebracht wurden, bei Kaninchen Erkrankung und Tod in einigen Tagen zur Folge. Man findet dann in den Organen, besonders in den Nieren, vielfache Herde von Pilzmycelien, die sich aus den Sporen entwickelt haben. Ebenso kann bei Vögeln durch Inhalation von Sporen, speciell des Aspergillus fumigatus, eine pneumonische Erkrankung (Pneumonomycosis aspergillina) entstehen. Beim Menschen sind Aspergilluswucherungen speciell im äusseren Gehörgange, in einem Falle auch in der Hornhaut, beobachtet worden; auch über Nieren- sowie über Lungenerkrankungen beim Menschen, die durch Infection mit Aspergillus hervorgerufen waren, ist berichtet worden.

Alle die genannten pathogenen Schimmelpilze lassen sich künstlich züchten; sie gedeihen, ihren für Warmblüter pathogenen Eigenschaften entsprechend (cf. p. 22), am besten bei Körpertemperatur. Als Nährboden eignet sich besonders sterilisirter Brotbrei (cf. p. 124). Nach Siebenmann erhält man Colonien von pathogenen Aspergilleen leicht dadurch, dass man Schwarzbrot zunächst der Luft aussetzt und es dann bei Brüttemperatur hält.

Zur mikroskopischen Untersuchung der Schimmelpilze geht man zweckmässig so vor, dass man ein kleines Stück des zu untersuchenden Materials auf den Objectträger in ein Tröpfchen Glycerin [1]) bringt und es dann mit zwei Nadeln in kleinste Partikelchen zerzupft. Man kann dann nach dem Auflegen eines Deckglases die Untersuchung vornehmen, die am vortheilhaftesten mit starkem Trockensystem geschieht. Will man das Präparat conserviren, so umzieht man das Deckglas in bekannter Weise mit einem Ring von Asphaltlack (cf. oben p. 64, Anm. 1).

Eine Färbung ist bei der Untersuchung der Schimmelpilze gewöhnlich völlig überflüssig. Man untersucht diese Organismen am besten ungefärbt. Eine Methode, Pilzfäden innerhalb von

---

[1]) Mit Wasser benetzen sich die Schimmelpilze gewöhnlich nicht gut. Man erhält deshalb, wenn man die Pilzmasse in Wasser zerzupft, ganz gewöhnlich Luftblasen, welche die Beobachtung erschweren. Auch in Glycerinpräparaten bekommt man häufig störende Luftblasen. Nach Unna leistet jedoch eine Flüssigkeit von folgender Zusammensetzung gute Dienste: Gelatine 1,0, Spiritus, Liqu. Ammon. caust. ana 25,0, Glycerin 15,0, Aqua dest. 35,0.

Nähragar gefärbt darzustellen, hat Unna angegeben. Die in Celloidin (cf. oben p. 82) eingebetteten Stücke der Agarcultur werden mit Hülfe des Mikrotoms in feine Schnitte zerlegt. Die (mit Aether und Alcohol) wieder von dem Celloidin befreiten Schnitte werden zunächst 1 Min. in 5proc. Kalilauge, dann (nach Abspülung in Wasser) 5 Min. in eine 5proc. Essigsäurelösung gebracht, dann auf dem Objectträger angetrocknet (cf. oben p. 227), mit einigen Tropfen einer kräftig färbenden Anilinfarbstofflösung bedeckt und etwas erwärmt. Die Farblösung wird dann mit Wasser abgespült, der Schnitt leicht mit Fliesspapier abgetupft, mit Anilinöl entwässert (cf. oben p. 85, Anm. 1 und p. 106), mit Xylol durchtränkt und in Balsam eingeschlossen.

Unter den pathogenen Schimmelpilzen sind speciell für den Menschen einige (zu den Oïdien gehörende) Arten als Dermatophyten, als Hautpilze, von Bedeutung, nämlich der Favuspilz, der Pilz des Herpes tonsurans und der Pilz der Pityriasis versicolor. Vielleicht gehört auch der Soorpilz zu den Oïdien.

Der Favuspilz (Achorion Schönleinii) wurde 1839 von Schönlein entdeckt. Er findet sich in den bekannten Favusborken.

Der Favuspilz ist ein specifischer Pilz, welcher sich künstlich leicht züchten lässt, und dessen Biologie von Grawitz, von Quincke, von Unna und von anderen Autoren studirt worden ist.

Reinculturen des Favuspilzes erhält man leicht, wenn man ein Stückchen einer Favusborke in sterilem Wasser oder Bouillon (z. B. nach der oben, p. 126, beschriebenen Methode) fein zerreibt und aus einer Oese der gewonnenen Suspension Agarplatten herstellt, die dann im Brütschrank bei etwa 30° C. gehalten werden. Schon nach 24 Stunden sieht man dann die kleinen fädigen Pilzcolonien entstehen.

Der Favuspilz gedeiht bei Zimmer- und bei Brüttemperatur; das Temperaturoptimum scheint bei c. 30° C. zu liegen. Auf Agar gezüchtet bildet der Pilz schneeweisse, von unten her gesehen gelb erscheinende, Wucherungen. Gelatine wird langsam verflüssigt.

Quincke hat zuerst die Ansicht ausgesprochen, dass es mehrere Arten von Favuspilzen giebt, d. h. mehrere Pilzarten, welche die klinischen Erscheinungen des Favus hervorbringen. Unna vertritt neuerdings diesen Standpunkt ebenfalls.

Der Herpes tonsurans-Pilz (Trichophyton tonsurans) wurde 1845 von Gruby und Malmsten entdeckt. Sein mikroskopisches

Aussehen gleicht dem Favuspilze sehr. Ebenso haben die künstlichen Culturen beider Pilze grosse Aehnlichkeiten. Die Gelatine wird verflüssigt. Um die Erforschung der Biologie haben sich Grawitz und Quincke verdient gemacht. Auf Taf. XII, Fig. 72, ist eine Stelle aus einer fructificirenden (d. h. sporenbildenden) Agarcultur des Herpes tonsurans-Pilzes bei 240facher Vergrösserung dargestellt.[1])

Der Pilz der Pityriasis versicolor (Microsporon furfur) wurde 1846 von Eichstedt entdeckt. Er ist auf festen Nährböden noch nicht gezüchtet worden.

Der Soorpilz (Oïdium albicans) wurde von Robin entdeckt. Mit der Erforschung seiner Biologie haben sich namentlich Grawitz und Plaut beschäftigt. Plaut hält den Pilz, speciell auch auf Grund von vergleichenden Thierversuchen, mit Monilia candida Bonorden für identisch. Der Soorpilz lässt sich künstlich reincultiviren; er ist streng aërob, wächst am besten bei Brüttemperatur. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Klemperer hat gezeigt, dass durch intravenöse Einverleibung der Reincultur in den Kaninchenkörper allgemeine Soormykose hervorgerufen wird.

Die pathogenen Protozoën.

In den letzten Jahren hat man einer besonderen Gruppe von Organismen grössere Aufmerksamkeit zugewendet, welche allem Anscheine nach eine verbreitete Rolle in der Pathologie des Menschen und der Thiere spielen: den Protozoën, der niedersten Gruppe der Thierwelt. Zu den Protozoën gehören unter Anderem eine ganze Anzahl von morphologisch mehr oder weniger eingehend studirten Gebilden, welche man in dem Blute der verschiedensten Wirbelthiere, ferner in den Muskelzellen, ja sogar in den Kernen des Darm- und Nierenepithels schmarotzend angetroffen hat. Scheinen diese Gebilde zum Theil eine erhebliche pathogene Bedeutung nicht zu haben, so giebt es andererseits Protozoën, denen sehr beträchtliche pathogene Eigenschaften zukommen[2]).

[1]) Das Material stammt aus der Klinik des Herrn Priv.-Doc. Dr. Lassar; die Cultur wurde auch in dem Laboratorium des Herrn Dr. Lassar gezüchtet.

[2]) Zur Orientirung über den heutigen Stand unserer Kenntnisse von den pathogenen Protozoën empfiehlt sich das L. Pfeiffer'sche Werk: Die Protozoën als Krankheitserreger. Jena (Fischer) 2. Aufl. 1891.

Die für die menschliche Pathologie wichtigsten und zugleich die bestgekannten pathogenen Protozoën sind diejenigen, welche bei den Malariafiebern aufgefunden worden sind, und die höchst wahrscheinlich als die Ursache dieser Fieber anzusehen sind.

Im Jahre 1882 hat zuerst Laveran (in Algier) im Blute Malariakranker eigenthümliche Gebilde constatirt, die dann namentlich von Marchiafava und Celli in Rom (1883) einem genaueren Studium unterzogen, in dem Malariablute constant aufgefunden, bei anderen Krankheiten vermisst wurden, und die von den letztgenannten Autoren 1885 mit dem Namen „Plasmodium Malariae" belegt wurden. Dann hat sich um die weitere Erforschung dieser Gebilde und besonders um die Aufdeckung ihrer näheren Beziehungen zu dem Verlaufe der Malariafieber namentlich Golgi in Pavia (1886) grosse Verdienste erworben.

Wenn man Blut des Intermittenskranken untersucht, am besten zu Beginn des Fieberanfalles, so findet man innerhalb der rothen Blutkörperchen, und zwar bei einer mehr oder weniger grossen Anzahl derselben, kleine, rundliche, sich von der Substanz des Blutkörperchens wenig abhebende Gebilde, die mehr oder weniger lebhafte amöboide Bewegungen ausführen. Im Trockenpräparate lassen sich diese Gebilde mit Methylenblau färben[1]) und dadurch deutlicher machen. Nimmt man etwas später wiederum eine Blutuntersuchung vor, so sieht man diese kleinen, endoglobulären Gebilde, die Plasmodien, etwas vergrössert, gewachsen, und in ihrem Innern kleinste Körnchen schwarzen Pigmentes angehäuft. Zugleich erscheint das einschliessende Blutkörperchen blasser geworden. „Das Hämoglobin ist durch das parasitäre Gebilde in schwarzes Melanin umgewandelt worden". Diese Pigment- (Melanin-) Bildung ist die Ursache der bei der Malaria zu beobachtenden Melanaemie. Weitere Untersuchungen zeigen dann, dass das Plasmodium an Grösse weiter zunimmt, sich mehr mit Pigment belädt, und dass dabei das Blutkörperchen mehr und mehr entfärbt, vernichtet wird.

Die letzteren Vorgänge spielen sich, wie Golgi gezeigt hat, besonders in der Zeit zwischen je zwei Fieberanfällen ab. Kurz vor dem Beginne des nächsten Anfalles beobachtet man dann eine höchst interessante Erscheinung an den Plasmodien, die als eine Art Sporulation, Maturation aufgefasst wird. Diese Erscheinung tritt ge-

---

[1]) Sehr gut eignet sich zu diesem Zwecke auch die oben (p. 72) angegebene Eosin-Methylenblaulösung, welche die Parasiten blau, die Blutkörperchensubstanz roth färbt.

wöhnlich so auf, dass, während sich das Pigment in die centralen Theile des Plasmodiums zusammengezogen hat, der übrige Theil, der Randtheil des Plasmodiums, in eine grössere Anzahl (6 bis 10 oder mehr) sectorenförmige Theile gespalten wird, die durch radiär gestellte Grenzen von einander getrennt sind. Es kommt so zur Bildung sehr zierlicher rosettenförmiger Figuren (Segmentation).

Nach Golgi kann man aus dem Befunde solcher segmentirter Plasmodien im Blute mit Sicherheit auf den unmittelbar bevorstehenden Anfall schliessen. Untersucht man nämlich etwas später das Blut wieder, so findet man diese segmentirten Formen nicht mehr. Die aus der Segmentation des Plasmodiums hervorgegangenen, den Rand der Rosette bildenden kleinen Körperchen sind, nachdem sie runde Gestalt angenommen haben, frei geworden. Man findet sie nun z. Th. frei im Blute, z. Th. aber sind sie schon wieder in neue Blutkörperchen eingedrungen, um dort wieder zu wachsen, Pigment zu bilden, sich später von Neuem zu theilen etc. Man hat also in der Segmentation die Bildung junger Plasmodien zu erblicken. Das Freiwerden derselben und das massenhafte Befallenwerden rother Blutkörperchen seitens derselben ist zeitlich mit dem Beginne des neuen Fieberanfalles verknüpft.

Golgi hat es wahrscheinlich gemacht, dass es zwei verschiedene Arten von Malariaplasmodien giebt; die einen sind die der Febris tertiana, die anderen die der Febris quartana. Die ersteren vollenden ihren (regelmässigen) Entwickelungs-Cyclus in zwei Tagen, die letzteren in drei Tagen. Quotidianfieber kommen durch combinirte Infection mit verschiedenen Plasmodiengenerationen zu Stande. Während die eine Generation heute in das Stadium der Segmentation tritt, bildet sich die Segmentation bei der anderen Generation erst morgen aus.

Diese, durch einen regelmässigen Entwickelungscyclus ausgezeichneten Plasmodien reagiren sofort auf Chiningaben. Das Chinin lässt die Plasmodien spurlos aus dem Blute verschwinden. Klinisch sind die von Plasmodien mit regelmässigem Entwickelungscyclus begleiteten Fieber durch den typischen Verlauf, den regelmässigen Eintritt der Anfälle, die zwischen den Anfällen eintretende wirkliche Intermission und das prompte Reagiren auf Chinin characterisirt. Diese Fälle werden auch fast stets zur Heilung gebracht. Die Frühlingsfieber in Rom tragen meist diesen gutartigen Character.

Es giebt aber andere Fieber, atypische, perniciöse Fieber (Sommer- und Herbstfieber Rom's), bei denen die Anfälle nicht

regelmässig kommen, bei denen die Temperatur keine Intermissionen, sondern nur unregelmässige Remissionen macht, die gar nicht oder schlecht auf Chinin reagiren, und die häufig zu der gefürchteten Malariacachexie führen. Hier ist auch der Plasmodienbefund ein anderer. Man findet zwar auch die oben genannten Formen, aber ausserdem sichel- und halbmondförmige („Laverania“) sowie ovale Körperchen, deren Naturgeschichte noch wenig bekannt ist. Die Segmentationsformen findet man bei diesen perniciösen Fiebern weniger im peripherischen Blute als im Blute innerer Organe (Milz, Gehirn).

Auch geisseltragende Formen finden sich bei den Malariafiebern im Blute.

Die künstliche Züchtung der Malariaplasmodien ist bisher nicht gelungen [1]). Durch intravenöse Einverleibung von Aderlassblut des Malariakranken in den Körper des gesunden Menschen hat man die Krankheit zu übertragen vermocht (cf. p. 172). Ist das letztere Experiment für die specifische pathogene Bedeutung der Plasmodien natürlich durchaus nicht beweisend, so ist andererseits jedoch damit nachgewiesen, dass der Erreger der Malaria im Blute des Kranken vorhanden ist. Nimmt man nun die Thatsache dazu, dass in diesem Blute mikroskopisch constant Gebilde zu finden sind, an denen man einen Entwickelungscyclus verfolgen kann, die also als selbständige Organismen aufgefasst werden müssen, berücksichtigt man andererseits die Thatsache, dass sich diese Gebilde ausschliesslich bei der Malaria, sonst aber bei keiner anderen Krankheit vorfinden, so ist der Schluss kaum abzuweisen, dass wir es hier mit parasitären Organismen zu thun haben, die der Malaria eigenthümlich sind, d. h. dass wir in den Plasmodien des Malariablutes die wirklichen Erreger der Malariafieber vor uns haben.

Den Erregern der Malaria ähnliche Organismen („Polymitus“) hat man auch im Blute gewisser Vogelarten als endoglobuläre Parasiten aufgefunden (Danilewsky). Es handelt sich hier um einen ziemlich häufigen Befund, bei dem die Thiere gewöhnlich nicht krank erscheinen.

Auch bei der „Hémoglobinurie microbienne des boeufs“

---

[1]) Sacharoff fand, dass die Malariaparasiten in dem Körper des abgekühlten Blutegels (nach der für Recurrensspirillen von Pasternatzky [cf. oben p. 324] angegebenen Methode) eine ganze Reihe von Tagen lebend conservirt werden können.

(V. Babes) und bei der „Texasfieberseuche des Rindes" (Smith) scheint es sich um Parasiten zu handeln, die denen der menschlichen Malaria nahe verwandt sind.

Es sei an dieser Stelle kurz der sogenannten „Dysenterie-Amöben" Erwähnung gethan. Zuerst im Jahre 1875 fand Loesch in Petersburg in dem übelriechenden Stuhle eines Falles von ulcerativer Dickdarmentzündung beim Menschen massenhafte Amöben. Es handelt sich um 20 bis 35 μ grosse, rundlich oder unregelmässig gestaltete Körper, welche die Fähigkeit haben Fortsätze auszustrecken und wieder einzuziehen, und die in ihrem Innern einen blassen runden Kern und mehrere Vacuolen von wechselnder Gestalt und Grösse besitzen, die ferner ganz gewöhnlich fremde Körper (rothe Blutkörperchen, Eiterzellen, Bakterien, Blutpigment) im Innern eingeschlossen enthalten („Amoeba coli"). Durch Uebertragung des amöbenhaltigen Stuhles per os und per anum auf Hunde vermochte Loesch — wenigstens bei einem seiner Versuchsthiere — eine ulcerative Entzündung des Rectums, welche sich durch Amöbenansiedlung bedingt zeigte, hervorzurufen.

In den letzten Jahren haben eine grössere Reihe von Autoren — namentlich Kartulis — bei sogenannter „tropischer Dysenterie" des Menschen derartige Amöben nachgewiesen. Eine künstliche Reincultur dieser Parasiten, deren pathogene Bedeutung noch nicht ganz sichergestellt ist, ist bisher nicht gelungen. Die gewöhnliche Dysenterie zeigt übrigens keine Amöben.

C. Saprophytische (nicht pathogene) Bakterienarten.

In Folgendem sollen einige der bekannteren und wichtigeren saprophytischen Bakterienarten kurz besprochen werden. Die Gesichtspunkte, welche uns bei der Auswahl aus der sehr grossen Zahl der überhaupt bekannten und beschriebenen Arten zu leiten haben, sind etwa folgende: Es werden solche Arten zu berücksichtigen sein, die sehr verbreitet in der Natur vorkommen, die uns eventuell auch häufig als spontane Verunreinigungen unter die Culturen gerathen, ferner solche, die häufiger vorkommende specifische Gährungen veranlassen, und solche, die in unserem eigenen Körper constant als Schmarotzer gefunden werden. Sodann sind auch solche Arten zu betrachten, welche, ohne specifische Gährungen zu veranlassen, durch besonders auffallende sonstige Functionen (Farbstoffbildung, Fluorescenz, Phosphorescenz) ausgezeichnet sind, oder die durch ihre Form auffallen.

1. Der Kartoffelbacillus[1]) (Bacillus mesentericus vulgatus). Auf gekochten Kartoffelscheiben entstehen häufig spontan Bacillencolonien. Dieselben treten gewöhnlich in Form eines kleinen nassen Fleckes am Rande der Kartoffel auf, breiten sich dann schnell über die Kartoffelfläche aus und bilden hier eine schleierartig gefaltete Membran, welche, wenn man Theile von ihr mit dem Platindraht abzunehmen versucht, sich aus einem zähen fadenziehenden Schleim zusammengesetzt erweist. Die Colonien gehen hervor aus Sporen, welche bei der Zubereitung der Kartoffel, dem Sterilisiren und Kochen, nicht getödtet wurden (cf. p. 137).

Der Bacillus bildet grössere Stäbchen, die einzeln, zu zweien oder in kleinen Verbänden auftreten. Der Bacillus ist eigenbeweglich; er trägt an seinen Enden Geisselfäden. Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. Er wächst bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur. Er bildet mittelständige Sporen. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Platte entstehen kreisrunde Colonien. Auf der

[1]) Eine ganze Reihe von Bacillenarten trägt den Namen „Kartoffelbacillus". Hier soll nur der als „Kartoffelbacillus" schlechthin bezeichnete Bacillus, die am häufigsten vorkommende Art, beschrieben werden (cf. auch oben p. 27 und 137).

Agaroberfläche bildet der Bacillus einen dicken, runzeligen, mattweissen Belag (C. Fraenkel).

2. Der Heubacillus (Bacillus subtilis Ehrenberg) ist ausserordentlich verbreitet in der Natur. Er kommt in der Luft, im Staub, speciell im Heustaub, im Boden, in Fäces etc. vor. An diesem Organismus entdeckte F. Cohn die Sporenbildung bei den Bacillen.

Der Bacillus bildet grosse Stäbchen, ähnlich den Milzbrandbacillen, aber nicht mit scharf abgeschnittenen, sondern abgerundeten, abgestutzten Enden. Der Bacillus ist ferner zum Unterschiede von dem Milzbrandbacillus eigenbeweglich. An den Enden wies Koch je eine starke, mit 1—2 grossen Krümmungen versehene Geissel nach. Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. Er gedeiht sowohl bei Zimmer- wie bei Brüttemperatur. Auf der Gelatineplatte zeigen sich die Heubacillen in ganz jungen Colonien zu längeren Fäden ausgewachsen. Sobald sie sich aber weiter entwickeln, was unter schneller Verflüssigung der Gelatine stattfindet, dann sieht man sie nur in Form von lebhaft beweglichen Stäbchen den Innenraum der Colonie erfüllen und am Rande derselben in ganz regelmässigen, senkrecht gegen die Peripherie gerichteten Massen sich in die noch feste Gelatine einbohren, so dass die Colonie so aussieht, als sei sie von einem Strahlenkranze umgeben (Koch). In Gelatinestichculturen kommt es nach eingetretener Verflüssigung der Gelatine zur Bildung einer oberflächlichen weissen Kahmhaut. Auf Kartoffeln bilden die Heubacillen sehr kräftige Culturen, die einen weisslichen, rahmartigen Ueberzug darstellen (Koch). Auf Agar bilden sich steife, leicht ablösliche, runzelige und faltige Ueberzüge, dem Aussehen nach dem Wachsthum des Kartoffelbacillus auf Kartoffeln (p. 339) vergleichbar (Eisenberg). Der Bacillus bildet endogene Sporen von 1,2 μ Länge und 0,6 μ Breite, welche ausserordentlich resistent sind. Taf. VI, Fig. 36, zeigt ein Präparat von sporenhaltigen Heubacillen bei 1000facher Vergrösserung (cf. oben p. 203). Bei der Keimung verlässt das Keimstäbchen die Spore in der Mitte ihrer Längsseite durch einen sich in der Sporenmembran bildenden Riss und tritt in zu der Längsrichtung der Spore senkrechter Richtung aus (Prazmowsky).

3. Der wurzelförmige Bacillus (Wurzelbacillus, Bacillus mycoides, Erdebacillus) wird fast in jeder Bodenprobe angetroffen, die man in Gelatine einsäet.

Er bildet grosse Stäbchen, etwas dicker als Milzbrandbacillen, die dadurch ausgezeichnet sind, dass sie auf der Gelatine- (und Agar-) Platte Colonien bilden, die wie ein weitausgreifendes, vielfach verschlungenes Wurzelgeflecht aussehen (Koch). Auf Taf. IV, Fig. 24, sieht man dies Wurzelgeflecht in natürlicher Grösse in einer Rollröhrchencultur (cf. oben p. 139 und 160). Auf Taf. I, Fig. 4, ist eine Stelle aus einem Klatschpräparat von der Gelatineplatte bei 1000facher Vergrösserung dargestellt. Der Bacillus ist eigenbeweglich; er wächst auf den gewöhnlichen Nährböden bei Sauerstoffanwesenheit. In Gelatinestichculturen geht, entsprechend dem Wachsthum auf der Platte, zunächst die Bildung eines zierlichen Geflechtwerks vor sich, welches von allen Theilen des Impfstiches in die Gelatine hineinwächst. Die Gelatine wird dann schnell verflüssigt. Auf Kartoffeln bildet sich ein weisslicher, auf die Impfstelle beschränkter Belag (Eisenberg). Der Bacillus bildet endogene Sporen.

4. Der Bacillus Megaterium de Bary. Derselbe wurde zuerst auf gekochten Kohlblättern gefunden. Er stellt ein grosses, 2,5 μ dickes, leicht bogig gekrümmtes, wenig lebhaft eigenbewegliches Stäbchen dar, welches endogene Sporen bildet. Die Eigenbewegung wird vermittelt durch 4 bis 8 seitlich stehende Geisseln (Messea). Die Sporenbildung und Sporenkeimung hat de Bary an diesem Bacillus ganz besonders eingehend studirt: Bei der Sporenbildung tritt meist dicht an einer Endfläche in dem Protoplasma ein kleiner, rundlicher, stark lichtbrechender Körper auf. Dieser nimmt an Volumen zu, während die ihn umgebende Protoplasmamasse successive schwindet. Nach wenigen Stunden (bei 20°) ist er herangewachsen zu einem länglich cylindrischen Körper, der stark lichtbrechenden, bläulich glänzenden Spore. Bei der Sporenkeimung verschwindet zunächst, während die Spore an Volumen zunimmt, ihr starker Glanz. Hat die Spore die normale Stäbchenbreite erreicht, so „hebt sich in vielen Fällen mit einem Male eine quer oder schräg zweiklappig aufgerissene zarte Membran von der Oberfläche ab, und aus dieser gleitet die zart umschriebene Zelle hervor“ (de Bary). Der Bacillus wächst auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei 20° C., aber auch bei Brüttemperatur. Der Bacillus hat ausgesprochenes Sauerstoffbedürfniss. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf der Agaroberfläche entstehen graue, schleimige Ueberzüge. Auf Kartoffeln bilden sich dicke, gelblich- bis grauweisse Beläge.

5. Die Proteusarten Hauser's. In faulenden Substanzen hat G. Hauser (1885) drei Arten von Fäulnissbakterien häufiger angetroffen, welche er Proteus vulgaris, Proteus mirabilis und Proteus Zenkeri nennt. Diese Arten sind nach Hauser pleomorph. Sie sind Fäulnisserreger, erzeugen bei ihrem Wachsthum Stoffwechselproducte (Alkaloide), welche auf Thiere giftig wirken.[1])

a. Die am häufigsten vorkommende Art ist Proteus vulgaris. Dieser Organismus bildet Stäbchen von 0,6 μ Breite und verschiedener Länge, welche lebhaft eigenbeweglich sind, auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei 20—24^0 C., wachsen. Jedes Stäbchen trägt (nach Messea) äusserst zahlreiche (60 bis 100) seitlich stehende Geisseln, welche in gelungenen, nach Loeffler (cf. oben p. 75 ff.) gefärbten Präparaten dem Bacillus das Aussehen eines Federbartes verleihen. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Gelatineplatte (6 proc. Gelatine) setzt sich der verflüssigte Bezirk häufig (nicht immer) in eigenthümlichen, die wunderlichsten verschlungenen Figuren („Schwärmende Inseln") bildenden Ausläufern in die solide Gelatine hinein fort („Bacillus figurans"). Auf der Agaroberfläche kommt es zur Bildung von grauen, feuchtglänzenden Ueberzügen. Auf Kartoffeln bildet der Bacillus schmierige Beläge. Sporenbildung ist nicht vorhanden.

b. Der Proteus mirabilis bildet Stäbchen von 0,6 μ Breite und wechselnder Länge. Die Culturen auf der Gelatineplatte bilden in der Tiefe des Nährbodens wunderbar gestaltete, gewundene Zoogloeamassen; auf der Oberfläche bilden sich gelegentlich „schwär-

---

[1]) Gelegentlich scheinen die Proteusarten auch spontan als Erreger specifischer Krankheiten auftreten zu können. Die erste derartige Mittheilung stammt von Bordoni-Uffroduzzi (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 3. 1887). Der Autor fand in zwei Sectionsfällen von Menschen, die nach ganz kurzer mehrtägiger Krankheit starben, und bei denen Blutreichthum der inneren Organe und Hämorrhagien in der Luftröhren- resp. der Darmschleimhaut vorgefunden wurden, im Blute und in den Organen einen an die Hauser'schen Proteusarten erinnernden Mikroorganismus, den er „Proteus hominis capsulatus" (cf. oben p. 184, Anm. 1) nannte. Mäuse und Hunde waren sehr empfänglich für die Infection, die sowohl durch subcutane und intravenöse Infection wie durch Einverleibung vom Darme her erfolgte.

Kürzlich hat Jäger (Zeitschr. f. Hyg. Bd. 12. 1892) in Ulm mehrere Fälle von Weil'scher Krankheit beim Menschen (fieberhafter Icterus mit Milztumor und Nephritis) beschrieben, in welchen sich in den Organen eine Proteus-ähnliche Bakterienart („Bacillus Proteus fluorescens") vorfand. Dieselbe Proteusart wies Jäger auch als Erreger einer in der Nähe Ulm's spontan auftretenden Geflügelseuche nach.

mende Inseln“ wie bei Proteus vulgaris. Die Gelatine wird sehr langsam verflüssigt.

c. Der Proteus Zenkeri bildet Bacillen von 0,4 μ Breite und im Mittel 1,6 μ Länge. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Es bilden sich gelegentlich „schwärmende Inseln“ wie bei Proteus mirabilis.[1])

6. Bacterium termo. Unter dieser Bezeichnung wurden früher, als man noch nicht verstand mit Reinculturen zu arbeiten, Bakterien verstanden, die man in faulenden Flüssigkeiten antraf, und die man als die Erreger der Fäulniss ansah. Bacterium termo waren kurze, meist zu zweien auftretende, lebhaft bewegliche Stäbchen. Heutzutage kann die Bezeichnung „Bacterium termo“ nur als Sammelname für ein inconstantes Gemenge von Arten angesehen werden; und die Bezeichnung ist deshalb überhaupt fallen zu lassen (Flügge).

7. Der Bacillus acidi lactici Hueppe (Bacillus der Milchsäuregährung, Milchsäurebacillus) bildet aus dem Milchzucker der Milch Milchsäure und Kohlensäure. Dabei tritt eine Gerinnung des Caseïns ein. Er findet sich in saurer Milch.

Der Milchsäurebacillus bildet meist zu zweien verbundene Kurzstäbchen ohne Eigenbewegung, welche in Gegenwart von Sauerstoff wachsen, aber auch einen gewissen Sauerstoffmangel ertragen. Unter 10° findet keine Entwickelung statt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 35 und 42° C. Der Bacillus bildet endogene Sporen. Die Gelatine[2]) wird nicht verflüssigt. Es bilden sich langsam wachsende, porcellanartig glänzende Colonien

---

[1]) Hauser hat neuerdings die Ansicht ausgesprochen, dass die drei vorstehend beschriebenen Organismen nicht als verschiedene Arten anzusehen sind, sondern dass die drei Formen einer einzigen Species angehören. Er schliesst dies aus mit der Zeit eintretenden Veränderungen, die er an seinen Culturen beobachtete.

[2]) Nach Beyerinck wachsen die Milchsäurebakterien besonders gut auf Hefewasser-Traubenzuckergelatine, welche folgendermassen gewonnen wird: 20 g Hefe werden in 100 ccm Leitungswasser gekocht, 8 g Gelatine (oder $^3/_4$ g Agar) und 5 bis 10 g Traubenzucker zugefügt. Nach neuem Kochen wird filtrirt. — Giebt man diesem Nährboden einen Zusatz einer wässerigen Aufschwemmung von Kreide (bis zu starker Trübung), so eignet sich derselbe ausgezeichnet zur Erkennung und Isolirung der Milchsäurebakterien (Kreideboden). Jede auf der Platte entstehende Milch- (und ebenso Essig-) säure bildende Colonie kennzeichnet sich dadurch, dass der getrübte Nährboden in ihrer Umgebung klar durchsichtig wird.

in der Gelatine. Auf Kartoffeln bilden sich gelbbräunliche, feuchte Ueberzüge.

Der Milchsäurebacillus Hueppe ist nicht die einzige Bakterienart, welche den Milchzucker in Milchsäure umwandelt, aber die häufigste.

8. Die Bakterien der Buttersäuregährung. Es giebt mehrere Bakterienarten, welche die Eigenschaft haben, aus Kohlehydraten Buttersäure zu bilden. Genauer studirt sind zwei wesentlich von einander verschiedene Arten: der streng anaërobe Bacillus butyricus Prazmowsky und der aërobe Bacillus butyricus Hueppe.[1])

a. Der Bacillus butyricus Prazmowsky (Clostridium butyricum, Bacillus amylobacter) findet sich in ausserordentlicher Verbreitung in der Natur. Er stellt grosse Stäbchen von etwa 1 μ Breite und wechselnder Länge dar, die öfters Ketten bilden. Der Bacillus ist lebhaft eigenbeweglich. Er bildet Sporen, die meist mittelständig sind, und während deren Bildung das Stäbchen in der Mitte anschwillt, so dass eine Spindelform, eine Clostridiumform (cf. p. 17) entsteht. Die Sporen können aber auch am Ende des Stäbchens auftreten. Die Sporen sind 1 μ breit und 2—2,5 μ lang. Wenn die (frei gewordene) Spore auskeimt, so geschieht das so, dass aus einem endständigen Riss der Sporenmembran das Keimstäbchen hervortritt; die Sporenmembran sitzt dann weiterhin dem jungen Bacillus wie eine Kappe auf. Der Bacillus wächst nur bei Sauerstoffabschluss. In Lösungen von Stärke, Dextrin, Zucker, milchsauren Salzen bildet er grosse Mengen von Buttersäure unter gleichzeitiger Entwickelung von Kohlensäure und Wasserstoff. Dieselbe Gährthätigkeit entfaltet der Bacillus in alter Milch, deren Milchzucker aber zunächst durch Milchsäuregährung in Milchsäure übergeführt sein muss. Auch geronnenes Caseïn vermag der Bacillus langsam zu lösen. Unter gewissen Umständen, namentlich bei der Cultivirung des Bacillus auf stärkehaltigem Nährboden, zeigt das Protoplasma des Bacillus Granulose-Gehalt. Mit wässeriger Jodlösung färbt sich das Protoplasma hier ganz oder theilweise tiefindigoblau bis schwarzviolett (cf. p. 9). Davon hat der Bacillus den Namen „Bac. amylobacter“ erhalten. — Nach Gruber verbergen sich unter der Bezeichnung Clostridium butyricum mehrere Arten.

b. Der Bacillus butyricus Hueppe wurde von Hueppe

---

[1]) Neuerdings hat S. Botkin einen neuen (anaëroben) Bacillus butyricus aus Milch, Wasser, Erde, Staub isolirt und genauer studirt.

aus Milch isolirt. Derselbe bildet grosse, schlanke, häufig zu zweien verbundene Stäbchen, welche in Gegenwart von Sauerstoff auf den gemeinen Nährböden (bei Zimmer- sowohl wie bei Brüttemperatur) gedeihen und mittelständige Sporen bilden. Die Gelatine wird schnell verflüssigt. Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus feuchte, gelbliche Ueberzüge. In sterilisirter Milch veranlasst der Bacillus (am besten bei Brüttemperatur) zunächst labähnliche Gerinnung des Caseïns, ohne dass dabei die amphotere Reaction der Milch geändert wird. Dann wird das ausgefällte Caseïn wieder gelöst und in Pepton und einige weitere Spaltungsproducte übergeführt; unter diesen tritt Ammoniak auf. Zugleich macht sich ein bitterer Geschmack bemerkbar. Aus milchsauren Salzen bildet der Bacillus Buttersäure.

9. Der Bacillus aceticus (Bacterium aceticum, Mycoderma aceti, Essigpilz) hat das Vermögen, den Alcohol gegohrener Getränke (in Gegenwart von freiem Sauerstoff) in Essigsäure zu verwandeln. Er bildet auf derartigen Flüssigkeiten, am besten bei etwa 33° C., oberflächliche Kahmhäute, während die Flüssigkeit selbst trübe und stark sauer wird. Die Bacillen stellen Kurzstäbchen dar, die gewöhnlich zu langen Ketten verbunden sind. Mit den modernen Culturmethoden ist der Organismus noch nicht genauer untersucht.

10. Die Milchkothbakterien Escherich's. Im normalen Darme des Säuglings hat Escherich (1885) zwei Bakterienarten constant vorgefunden (obligate Milchkothbakterien). Die erste ist das Bacterium lactis aërogenes. Dasselbe bewohnt die oberen Darmpartien; weiter nach unten im Darme wird diese Art immer seltener und macht der zweiten Art Platz, dem Bacterium coli commune.

a. Das Bacterium lactis aërogenes ist ein plumpes Kurzstäbchen von 0,5 μ Breite, welches Eigenbewegung nicht besitzt. In Zuckerlösungen scheinen sich endständige Sporen zu bilden. Das Culturverhalten ist gleich dem des Hueppe'schen Milchsäurebacillus (p. 343). Auf Kartoffeln bilden sich weissgelbliche, rahmartig zerfliessende, von Gasblasen durchsetzte Colonien. Der Milchzucker wird durch das genannte Bacterium vergohren zu Milchsäure und besonders Essigsäure (A. Baginsky). Dabei bildet sich Kohlensäure, Wasserstoff und Methan.

b. Das Bacterium coli commune, welches auch im Darm

des Erwachsenen zu finden ist und auch bei Thieren vorkommt, haben wir oben (p. 297 ff.) ausführlich betrachtet.

11. Die Bakterien der ammoniakalischen Harnstoffgährung. Eine Anzahl Bakterienarten haben die Fähigkeit, Harnstoff in Ammoniumcarbonat umzuwandeln. Hierher gehören unter Anderem der Micrococcus ureae Leube, der Micrococcus ureae liquefaciens Flügge, der Bacillus ureae Leube.

a. Der Micrococcus ureae Leube ist ein Coccus von 0,8—1,0 μ Durchmesser, der einzeln, zu zweien, in Tetraden oder Ketten auftritt, auf der Gelatine ohne Verflüssigung oberflächlich wächst.

b. Der Micrococcus ureae liquefaciens Flügge hat 1,25—2 μ Durchmesser, kommt vereinzelt oder in kleinen Ketten oder unregelmässigen Gruppen vor und verflüssigt die Gelatine langsam.

c. Der Bacillus ureae Leube bildet plumpe Stäbchen von 1 μ Dicke mit abgerundeten Enden, welche auf der Gelatine oberflächlich wachsen, ohne dieselbe zu verflüssigen.

12. Um die Erforschung der in der Mundhöhle des Menschen vorkommenden Bakterien hat sich besonders W. D. Miller (cf. p. 176, Anm. 2, und p. 315, Anm. 1) verdient gemacht. Stets, in jeder Mundhöhle, zu finden sind folgende Bakterien („eigentliche Mundpilze"): Leptothrix buccalis innominata, Bacillus buccalis maximus, Leptothrix buccalis maxima, Jodococcus vaginatus, Spirillum sputigenum, Spirochaete dentium (denticola). Sämmtlich haben sie sich bisher den Versuchen, sie künstlich zu züchten, widersetzt.

a. Leptothrix buccalis innominata bildet 0,5—0,8 μ breite, vielfach gewundene und verschlungene, bewegungslose Fäden, welche sich mit Jodjodkaliumlösung gelb färben.

Eine Leptothrixart aus der Mundhöhle ist auf Fig. 19 (Taf. IV) dargestellt.

b. Bacillus buccalis maximus erscheint in Büscheln parallel laufender, 1—1,3 μ breiter Fäden, welche sich mit Jodjodkaliumlösung blauviolett färben (cf. p. 9: Granulosereaction).

c. Leptothrix buccalis maxima hat in der Form und Anordnung die grösste Aehnlichkeit mit dem Bacillus buccalis maximus, färbt sich aber mit Jodlösung gelb.

d. Jodococcus vaginatus kommt in Ketten von 4—10 Zellen vor, welche in einer Scheide stecken. Die Verbände haben eine

Dicke von 0,75 μ. Die eigentlichen Zellen färben sich mit Jodlösung blauviolett, die Scheide nimmt dabei schwach gelbe Färbung an.

e. Spirillum sputigenum bildet kommaförmige, lebhaft bewegliche Stäbchen, welche auch zu zweien zusammengelagert sind und dann S-Formen bilden. Ein Photogramm dieses Mikroorganismus findet man auf Taf. X, Fig. 59.

f. Spirochaete dentium (Sp. denticola, Zahnspirochaete) findet sich, wie die vorige Art, unter dem Zahnfleischrande; sie bildet 8—25 μ lange Schrauben (cf. Taf. I, Fig. 1, ferner den Rand der Figur 59 auf Taf. X). Sie hat zugespitzte Enden; dies hat sie mit der Recurrensspirochaete (p. 324) gemein, und beide unterscheiden sich dadurch von anderen Spirillen (Koch).

In dem Zahnbelage eines an Pyorrhoea alveolaris leidenden Hundes fand Miller einen Spaltpilz von riesigen Dimensionen: Leptothrix gigantea. Derselbe liess sich, wie die bisher genannten Arten, künstlich nicht züchten.

Die künstliche Reinzüchtung gelang Miller unter Anderem bei folgenden Mundpilzen: Jodococcus magnus (grosse Coccen, die sich mit Jodjodkaliumlösung blauviolett färben), Jodococcus parvus (kleine Coccen, die ebenfalls die Granulosereaction geben), ferner bei einem Coccus, der mit Jod schön rosaroth wird.

Ausser den genannten giebt es eine grosse Anzahl von im Munde gelegentlich zu findenden Arten, deren Reinzüchtung gelungen ist, die aber mit wenigen Ausnahmen noch nicht ausführlicher studirt worden sind.

Ueber die Zahncaries siehe oben (p. 176, Anm. 2).

13. Der Bacillus der blauen Milch (Bacillus cyanogenus, Bacterium syncyanum) ist die Ursache des häufiger zu beobachtenden spontanen Blauwerdens der Milch. Zuerst von Fuchs wurde die Ursache dieses Blauwerdens Bakterien zugeschrieben; später wurde der veranlassende Bacillus besonders von Neelsen und von Hueppe, ferner von Scholl, von Heim und von Gessard genauer studirt.

Der Bacillus cyanogenus ist ein kleines, etwa 0,4 μ dickes, schlankes Stäbchen, welches häufig zu zweien gruppirt auftritt und lebhafte Eigenbewegung besitzt. Die letztere wird vermittelt durch zahlreiche Geisseln, die wie beim Typhusbacillus (cf. p. 246) den Seitenwandungen des Individuums angeheftet sind. Die Frage, ob der Bacillus Sporen bildet, war von Hueppe in positivem Sinne entschieden worden; nach neueren Untersuchungen

jedoch (Scholl) muss die Frage als eine noch offene angesehen werden. Der Bacillus gedeiht auf den gewöhnlichen Nährböden, am besten bei Zimmertemperatur, und bildet, am besten auf leicht sauren Nährböden, ein schönes blaues Pigment. Bei Brüttemperatur wächst der Bacillus langsamer als bei Zimmertemperatur; hier bleibt die Pigmentbildung aus (Heim). Auf der Gelatine ist das Wachsthum vorzugsweise ein oberflächliches (der Bacillus ist aërob). Es bildet sich in der Stichcultur ein schmutzig-weissgrauer Belag auf der Oberfläche, während die Gelatine selbst, besonders um die oberen Theile des Impfstiches herum, eine mehr und mehr dunkel werdende, bläulich-violette bis braune Färbung annimmt. Je alkalischer die Gelatine ist, desto brauner wird die Färbung. In sterile Milch eingeimpft bewirkt der Bacillus weder Gerinnung noch Säuerung; sondern die Milch wird schwach alkalisch und färbt sich zugleich schiefergrau. Durch Säurezusatz geht dieses Grau in intensives Blau über. Impft man den Bacillus in rohe Milch, so kommt a priori (in Folge der durch die Milchsäurebakterien hervorgebrachten Säuerung der Milch) Blaufärbung zu Stande. Auf der Agaroberfläche bildet der Bacillus einen schmutzig-grauen Belag; der Nährboden selbst färbt sich in ähnlicher Weise, wie dies die Gelatine thut. Auf Kartoffeln bildet sich ein dicker, schmieriger Belag, in dessen Umgebung sich die Kartoffel schwarzblau färbt. Sehr schön gedeiht der Bacillus auf traubenzucker- oder glycerinhaltigen Nährböden (z. B. Traubenzucker-Agar etc.). In steriler Milch, der 2 % Traubenzucker zugesetzt sind, oder in 2 proc. Traubenzuckerbouillon bildet der Bacillus cyanogenus prachtvoll blauen Farbstoff und Milchsäure (Gessard).

14. Der Bacillus violaceus (violetter Bacillus aus Wasser) wird häufig in Fluss- und Leitungswasser (Spree, Themse) angetroffen.

Er ist ein kleines, schlankes, lebhaft eigenbewegliches Stäbchen, welches einzeln, aber auch zu längeren Fäden verbunden, vorkommt. Er bildet mittelständige Sporen. Der Bacillus gedeiht auf den gewöhnlichen Nährböden und bildet, am schönsten auf Agar und auf Kartoffeln, einen intensiv dunkelschwarzvioletten Farbstoff. Die Gelatine wird verflüssigt. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum ein langsames.

15. Der Bacillus Indicus (Bacillus ruber Indicus) wurde von R. Koch in Indien aus dem Mageninhalt eines Affen isolirt.

Er stellt einen sehr kleinen, eigenbeweglichen Bacillus

dar, welcher bei Sauerstoffanwesenheit auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und dabei einen ziegelrothen Farbstoff producirt. Die Gelatine wird energisch verflüssigt. Das Temperaturoptimum liegt bei etwa 35° C. Auf Agar sieht die Cultur zunächst weiss aus, färbt sich aber bald roth. Auf Kartoffeln bilden sich ziegelrothe Auflagerungen, die, mit Ammoniak betupft, dunkelroth, nach Essigsäurezusatz aber wieder ziegelroth werden (Eisenberg). Der Bacillus bildet giftige Stoffwechselproducte.

16. Der Bacillus prodigiosus (Micrococcus prodigiosus, Monas prodigiosa Ehrenberg) findet sich (selten) in der Luft und ist schon frühzeitig aufgefallen durch die intensiv blutrothe Färbung, welche er manchen Cultursubstraten verleiht.

Der Bacillus stellt ein sehr kleines, in jungen Culturen deutlich eigenbewegliches Kurzstäbchen dar (siehe Taf. II, Fig. 8), welches bei Zimmertemperatur sowohl wie bei Brüttemperatur auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und bei Zimmertemperatur einen mehr oder weniger intensiv rothen Farbstoff producirt. Bei Brüttemperatur wächst der Bacillus farblos, in weissen Culturen (Schottelius). Hand in Hand mit der Farbstoffproduction geht die Production von Trimethylamin (Geruch nach Heringslake; cf. p. 24). Am schönsten wird der Farbstoff auf Kartoffeln gebildet; hier ist er tiefblutroth; auf Agar spielt der Farbstoff mehr in das Carmoisinroth hinüber. Der auf Kartoffeln gebildete blutrothe Farbstoff wird, mit Essigsäure betupft, heller, ziegelroth; nach Ammoniakzusatz bildet sich wieder das ursprüngliche Dunkelroth (Eisenberg). Gelatine wird durch den Bacillus prodigiosus energisch verflüssigt.

17. Der Micrococcus agilis. Im Jahre 1889 wurde von Ali-Cohen aus Trinkwasser ein Micrococcus reingezüchtet, dem — im Gegensatz zu allen bis dahin bekannt gewordenen Coccenarten — die Eigenschaft der Eigenbeweglichkeit („agilis“) zukam (cf. p. 13).

Der Micrococcus agilis kommt fast immer als Diplococcus, seltener in kurzen Kettenverbänden, bisweilen in Tetradenform zur Beobachtung. Der Durchmesser des Coccus beträgt 1 μ. Der Coccus hat lebhafte Eigenbewegung, welche vermittelt wird durch sehr lange, ausserordentlich feine Geisseln, die gewöhnlich in der Einzahl vorhanden sind, aber auch zu mehreren an einem Individuum angebracht vorkommen (Loeffler). Der Micrococcus agilis lässt sich auf den gewöhnlichen Nährböden leicht züchten; er wächst bei Zimmertemperatur, nicht aber bei Brüttemperatur. Auf allen Substraten (Gelatine,

Agar, Kartoffel etc.) wird ein rosenrothes Pigment gebildet. Die Gelatine wird langsam verflüssigt. Nach der Gram'schen Methode (p. 100 ff.) färbt sich der Coccus.

Eine weitere bewegliche Mikrococcenart („Micrococcus agilis citreus“) hat kürzlich Menge beschrieben.

Loeffler hat ebenfalls gelegentlich einen eigenbeweglichen Micrococcus gefunden, cultivirt und kurz beschrieben.

18. Das Spirillum rubrum Esmarch wurde von E. v. Esmarch aufgefunden in dem Cadaver einer an Mäusesepticaemie verendeten Maus, der zur Gewinnung von Fäulnissbakterien mit Leitungswasser hingestellt worden war und 3 Monate später vertrocknet gefunden wurde. Das Spirillum bildet einen schönen rothen Farbstoff, aber nur bei Sauerstoffabwesenheit.

Das Spirillum wächst bei Zimmer- und bei Brüttemperatur, am besten bei 37° C. Es lässt sich auf den gewöhnlichen Nährböden züchten. In der Gelatine kommt es bei Zimmertemperatur nur sehr langsam zur Entwickelung. In der Stichcultur bildet sich nur im Verlauf des Impfstiches, nicht an der Oberfläche, rother Farbstoff (siehe oben). Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Auf festen Nährböden bilden sich nur kurze (3—4 Windungen umfassende), aber lebhaft bewegliche Spirillen; Loeffler hat an ihren Enden Geisselbüschel nachgewiesen. In flüssigen Nährböden kommt es zur Ausbildung sehr langer (30—40 und mehr Windungen umfassender) unbeweglicher Schrauben. Bezüglich etwaiger Sporenbildung ist Sicheres noch nicht bekannt. Das Spirillum rubrum ist das erste wirkliche Spirillum, dessen künstliche Reinzüchtung gelungen ist.

19. Chromogene Sarcinen. In der Luft kommen ganz gewöhnlich Sarcinekeime vor, die sich gelegentlich auf unseren Nährböden, Gelatineplatten, Kartoffeln etc., niederlassen und dort zur Entstehung von Colonien Veranlassung geben, die (meist) durch ihre Färbung auffallen. Die häufigsten sind — nach meiner Beobachtung — eine (die Gelatine sehr schnell verflüssigende) citronengelbe Sarcine, ferner eine weisse (langsam verflüssigende); ferner beobachtete ich öfters eine gelbgrüne Sarcine (ohne jedes Verflüssigungsvermögen); seltener kommt eine orange Sarcine vor, die ausserordentlich langsam wächst und die Gelatine nicht verflüssigt. Dies dürften wohl die hauptsächlichsten der in der Luft gewöhnlich vor-

kommenden Sarcinearten sein.[1]) Ein Photogramm der gelbgrünen Sarcine findet man auf Taf. III, Fig. 15.

20. Im Wasser kommen Bakterienarten vor, welche, in Gelatine gezüchtet, derselben eine prachtvolle grüne fluorescirende Färbung verleihen. C. Fraenkel beschreibt deren zwei.

Die eine ist ein kleiner, feiner Bacillus ohne Eigenbewegung. Derselbe wächst bei Zimmertemperatur auf der Gelatine, und zwar fast ausschliesslich oberflächlich, in Gestalt einer zarten, grauen, blattartig gezeichneten Haut. Die darunter liegende Gelatine fluorescirt prachtvoll hellgrün („Bacillus fluorescens"). Die Gelatine wird nicht verflüssigt.

Die zweite Art ist der sogenannte Bacillus erythrosporus. Derselbe ist viel grösser als der vorhergenannte, ist eigenbeweglich und bildet grosse mittelständige Sporen, welche einen eigenthümlichen rothen Glanz („erythrosporus") besitzen sollen. Die Gelatine wird nicht verflüssigt. Das Wachsthum ist nicht auf die Oberfläche beschränkt wie bei dem vorigen Bacillus. Die Gelatine fluorescirt ebenso schön wie bei dem vorigen Bacillus.

21. Der Bacillus fluorescens liquefaciens (verflüssigender fluorescirender Bacillus) findet sich häufig in faulenden Flüssigkeiten. Er bildet kurze, eigenbewegliche Stäbchen, zu zweien verbunden. Die Gelatine wird verflüssigt und zeigt, namentlich in den noch nicht verflüssigten Theilen, grünlich-gelbe Fluorescenz. Auf Kartoffeln bilden sich bräunliche Beläge (Flügge).

22. Eine Reihe von Bakterienarten hat die Eigenschaft, in ihren Culturen im Dunkeln zu leuchten. Mit dem Studium derartiger Bakterien haben sich Pflüger, Fischer, Forster, Katz und andere Autoren beschäftigt. Hier seien drei Arten aufgeführt, die von B. Fischer entdeckt resp. genauer studirt worden sind.

a. Bacillus phosphorescens. Derselbe wurde von Fischer bei der Insel S. Croix im Meerwasser gefunden. Er stellt kleine, dicke, eigenbewegliche Stäbchen dar, welche, am besten zwischen 20 und 30° C., auf den Nährböden wachsen und die Gelatine ver-

[1]) Hierzu möchte ich bemerken, dass sicher nicht alles, was in Lehrbüchern unter dem Namen „Sarcine" beschrieben ist, wirklich hierher gehört. Man darf nicht jeden Micrococcus, bei dem man gelegentlich (oder auch häufiger) Anhäufungen zu je vier Zellen sieht, als „Sarcine" bezeichnen. Nur das würde ich als „Sarcine" gelten lassen, was die typische, oben (p. 11) beschriebene und auf Taf. III, Fig. 15, abgebildete Packetform aufweist.

flüssigen; Sporen werden nicht gebildet. Auf Kartoffeln ist das Wachsthum ein geringes. Unter 10° C. findet überhaupt kein Wachsthum statt. Die Culturen leuchten (am besten bei Temperaturen zwischen 25 und 30° C.) im Dunkeln mit mildem, weissem, einen bläulichen Schimmer zeigenden Lichte, aber nur bei Sauerstoffanwesenheit. Zusatz geringer Mengen von Chlormagnesium oder Magnesiumsulfat zu leuchtenden Culturen verstärkt das Leuchten. Den günstigsten Nährboden für den Bacillus bilden gekochte Fische, die prachtvoll leuchtend werden.

b. Bacterium phosphorescens. Dasselbe stammt von todten Fischen aus der Ostsee, die bei einfachem Liegen (im Keller) häufig von selbst leuchtend werden. Es bildet kurze, plumpe, oft zu zweien zusammenhängende, aërobe Stäbchen ohne Eigenbewegung, welche auf der Gelatine ohne Verflüssigung, hauptsächlich oberflächlich, auf Kartoffeln nicht wachsen. Das Temperaturoptimum für das Leuchten liegt erheblich niedriger als bei dem vorigen Bacillus. Das Leuchten ist etwas stärker als bei dem vorigen Bacillus und zeigt einen grünlichen Schimmer.

c. Der einheimische Leuchtbacillus, von Fischer im Wasser des Kieler Hafens gefunden. Derselbe stellt kurze, dicke, lebhaft eigenbewegliche, aërobe Stäbchen dar, die auf der Gelatine am besten bei 3% Kochsalzzusatz wachsen, auf Kartoffeln nicht gedeihen. Die Gelatine wird verflüssigt. Das Wachsthum und Leuchten findet schon bei 5—10° C., ebenso aber bis gegen 25° C. hin, statt. Die Farbe des Lichtes ist keine grünliche, sondern eine bläulich-weisse.

23. Das Spirillum concentricum Kitasato. Dasselbe wurde von dem genannten Autor aus faulendem Rinderblut gezüchtet. Es wächst auf Gelatine bei Zimmertemperatur, ohne die Gelatine zu verflüssigen, und bildet auf der Platte eigenthümliche, aus concentrischen Ringen zusammengesetzte Colonien. In der Stichcultur findet hauptsächlich ein oberflächliches Wachsthum statt. Das Temperaturoptimum liegt zwischen 20 und 23° C. Auf Kartoffeln gedeiht der Organismus nicht. Mikroskopisch stellt das Spirillum kurze, 2—3 Windungen umfassende, lebhaft bewegliche Schrauben dar. In Bouillon kommt es zur Bildung von langen (5—20 Windungen zeigenden) Schrauben. Die Dicke der Organismen ist etwas grösser als die der Cholerabacillen. Sporenbildung wurde nicht constatirt. Das Spirillum trägt an den Enden Geisselbüschel (Loeffler).

24. Einige in ihrer Form auffällige, häufiger vorkommende Bakterienarten sollen in Folgendem noch aufgeführt werden, obgleich man dieselben in Reinculturen noch nicht studirt hat:

a. Bacillus tremulus Koch. Derselbe findet sich oft an der Oberfläche von faulenden Pfanzenaufgüssen, und zwar in solcher Menge, dass er eine ziemlich dicke, schleimige Haut auf denselben bildet. Er hat eine eigenthümliche zitternd rotirende Bewegung. Beide Enden des Bacillus tragen eine Geissel, welche eine feine, regelmässig gestaltete Wellenlinie bildet. Er bildet Sporen, welche dicker werden als der Bacillenkörper.

b. Spirillum Undula. Es kommt sehr häufig in allen möglichen faulenden Flüssigkeiten vor; namentlich in Strohaufgüssen habe ich es gewöhnlich gefunden. Es bildet grosse, mit kräftigen Geisseln oder mit Geisselbüscheln an den Enden versehene Spirillen (siehe Taf. III, Fig. 16; vergl. auch oben p. 74).

c. Spirochaete plicatilis. Von Koch häufig in Rinnsteinen, im Stadtgraben von Wollstein, im Schlamm am Rande des Wollsteiner Sees während des ganzen Sommers gefunden. Diese Art ist durch eine zweifache Wellenlinie, d. h. durch grössere primäre und kleinere secundäre Windungen, ausgezeichnet. Sie bewegt sich ausserordentlich schnell.

Anhang.

Ausser den saprophytischen Bakterien haben auch manche saprophytische Schimmelpilze uud auch manche Hefen für uns ein Interesse, weil sie sich gern als ungebetene Gäste auf unseren Bakterienculturen einzufinden pflegen.

Unter den Schimmelpilzen sind es namentlich manche Mucor-, Penicillium-, Aspergillus- und Oïdiumarten, welchen wir öfters begegnen. Oben (p. 328) haben wir bereits die für die Gattungen Mucor, Aspergillus und Oïdium characteristische Art und Weise der Sporenabschnürung kennen gelernt. Bei Penicillium ist diese wiederum abweichend. Die Fruchthyphen zeigen hier pinselartige Verzweigungen, auf denen die Sporen reihenweise abgeschnürt werden.

Der häufigste aller Schimmel ist das (zugleich die häufigste aller Verunreinigungen unserer Culturen, namentlich der Kartoffelculturen, bildende) Penicillium glaucum (grüner Pinselschimmel). Zunächst als kleines, wenig ausgebreitetes weisses Mycelgeflecht erscheinend nimmt seine Colonie schnell an Flächenausdehnung zu, und sehr bald kommt es in den mittleren Partien derselben zur Fructification (Sporenabschnürung); diese Theile sind durch grüne Farbe ausgezeichnet.

In der Milch (besonders in saurer), ferner in der Butter wird ganz gewöhnlich eine saprophytische Oïdiumart („Oïdium lactis") angetroffen. Dieser Organismus wächst auf der Gelatine, ohne dieselbe zu verflüssigen.[1]) Bei der Fructification bildet er trockene, weisse, oberflächliche Rasen. Das Temperaturoptimum für das Gedeihen des Oïdium lactis liegt bei 20° C.

Die Methoden der mikroskopischen Untersuchung der Schimmelpilze haben wir oben (p. 329) erörtert.

Von den Hefen oder Sprosspilzen (einzelligen Pilzen, welche sich durch Sprossbildung, die an den vegetativen Zellen auftritt,

[1]) Sauer reagirende Gelatine kann verflüssigt werden.

vermehren [cf. Taf. II, Fig. 7; vergl. auch oben p. 8], die aber unter Umständen auch Sporen [sog. Ascosporen] bilden können) kommen einige Arten sehr häufig in der Luft vor, namentlich die sogenannte Rosa-Hefe, welche auf den gewöhnlichen Nährböden wächst und dabei einen hellrosa Farbstoff producirt. Die Gelatine wird durch diesen Organismus nicht verflüssigt. Ebenso verhalten sich zwei andere (seltenere), ebenfalls in der Luft anzutreffende Hefearten: die schwarze und die weisse Hefe. Sie sind nur durch die Farbe des producirten Pigmentes von der Rosa-Hefe unterschieden. Ausserordentlich üppig wachsen die chromogenen Hefearten auf traubenzucker- und auf glycerinhaltigen Nährböden.

An dieser Stelle seien zwei weitere — in der Natur sehr verbreitete — Hefearten genannt: die Bierhefe (Saccharomyces cerevisiae) und die Weinhefe (Saccharomyces ellipsoideus). Beide haben das Vermögen, wässerige Lösungen der Zuckerarten von der Formel $C_6H_{12}O_6$ unter Bildung von Alcohol und Kohlensäure zu vergähren (Alcoholgährung; alcoholische Gährung). — Hefezellen aus dem Bodensatz von Weissbier sind auf Taf. II. Fig. 7, dargestellt.

Register.

(Die Ziffern ohne Bezeichnung bedeuten die Seitenzahlen; der wichtigste Nachweis steht meist an erster Stelle.)

Vorbemerkung zu den Tafeln.

Die folgenden Photogramme sind der grösseren Mehrzahl nach mikroskopische Vergrösserungen.

Was die starken Vergrösserungen, die Vergrösserungen mit dem Immersionssystem, angeht, so haben die Ermittelungen der letzten Jahre ergeben, dass etwa eine 1000 fache Vergrösserung die noch mit Vortheil zu benutzende Maximalleistung unserer besten Instrumente repräsentirt. Geht man über die 1000 fache Vergrösserung hinaus, so verliert das Bild an Schärfe und lässt keine Details erkennen, die nicht auch schon in dem 1000 fach vergrösserten Bilde vorhanden wären. Die 1000 fache Vergrösserung lässt sich aber nur für solche Präparate anwenden, die eine sehr dünne ebene Schicht repräsentiren; d. h. sie kann bei Bakterienaufnahmen nur für Deckglastrockenpräparate in Anwendung kommen. Die besondere Natur der Schnittpräparate bringt es mit sich, dass man hier mit Vortheil nicht über eine 500 fache Vergrösserung hinausgehen kann.[1])

Ein grosser Vortheil der 1000 fachen Vergrösserung ist der, dass man die wirkliche Grösse der Objecte ohne Weiteres direct mit dem Millimetermassstab feststellen kann. 1 mm auf dem Bilde entspricht natürlich $^1/_{1000}$ mm oder 1 μ in der Wirklichkeit. Ausserdem fallen die relativen Grössenverhältnisse der verschiedenen bei einer und derselben Vergrösserung dargestellten Objecte ohne Weiteres ins Auge.

---

[1]) Unter Umständen können auch Ausnahmen von dieser Regel vorkommen. So ist z. B. auf Taf. XI, Fig. 66, ein Schnittpräparat bei 1000 facher Vergrösserung dargestellt. In diesem Falle erlaubte es die besonders günstige Lagerung der darzustellenden Details (Streptococcenketten), die 1000 fache Vergrösserung mit Vortheil anzuwenden.

Die folgenden, bei 1000facher (Trockenpräparate) und bei 500-facher Vergrösserung (Schnittpräparate) aufgenommenen Photogramme sind mit dem Zeiss'schen 2mm-Apochromat-System (Apertur 1,40), dem besten System, welches wir heutzutage haben, hergestellt.[1])

Ausser diesen sehr starken Vergrösserungen sind auch (je nach Bedürfniss) schwächere Vergrösserungen benutzt. Fig. 21 auf Taf. IV (250fach), sowie Fig. 47 auf Taf. VIII (200fach) wurden mit Zeiss DD, Fig. 27 auf Taf. V (150fach) mit Zeiss CC, Fig. 23 auf Taf. IV, sowie Fig. 61 und 62 auf Taf. XI (100fach) mit Zeiss BB. Fig. 29 und 30 auf Taf. V (43 resp. 40fach) mit Zeiss AA, Fig. 22 auf Taf. IV (25fach) mit Zeiss aa aufgenommen.

Die Vergrösserungen sind übrigens sämmtlich zuverlässig genau (unter Zugrundelegung eines Zeiss'schen Objectmikrometers) angegeben.

Ferner sind eine Reihe von Culturen in natürlicher Grösse dargestellt. Diese Aufnahmen wurden theils mit einer gewöhnlichen achromatischen „Landschaftslinse", theils mit einem Suter'schen Aplanat hergestellt; beide Instrumente haben c. 17 cm Brennweite.

An den meisten Bildern (namentlich gilt dies für die schwachen Vergrösserungen) wird man mit schwacher Loupe mehr sehen als mit blossem Auge.

Die mikroskopischen Aufnahmen wurden z. Th. bei Petroleumbeleuchtung, z. Th. bei Beleuchtung mit Auer'schem Gasglühlicht gemacht. Nur bei der Aufnahme des Bildes Fig. 34 (Taf. VI) kam eine intensivere Lichtquelle (Magnesium) zur Verwendung, da hier die Natur des Objectes (flüssiger Tropfen) die bei den erstgenannten Lichtquellen nöthige längere Exposition nicht gestattete.

Bei allen mikroskopischen Aufnahmen wurde das oben (p. 67—69) entwickelte Princip der maximalen Beleuchtung zur Anwendung gebracht.

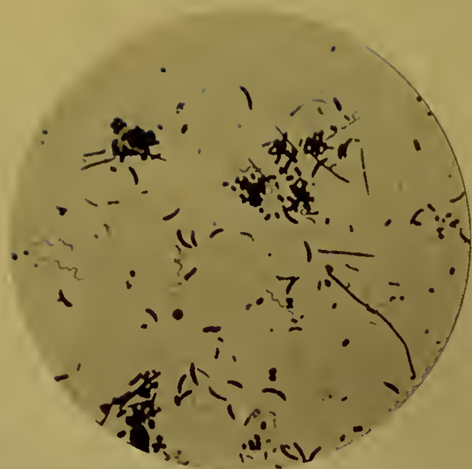
Die Aufnahmen in natürlicher Grösse wurden bei zerstreutem Tageslichte hergestellt.

---

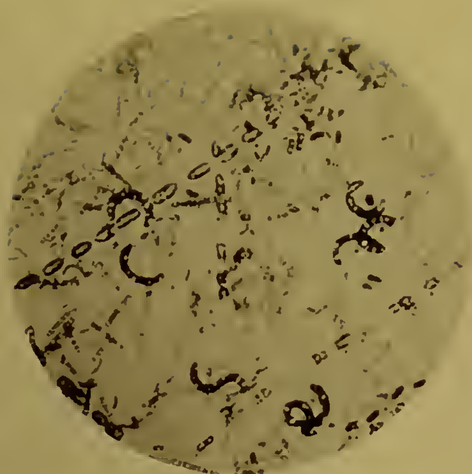
[1]) Eine Ausnahme macht das Schnittpräparat Taf. XII, Fig. 71, von welchem die 500fache Vergrösserung nicht mit dem Immersionssystem, sondern mit einem starken Trockensystem (Zeiss DD) hergestellt ist. Wenn auch die Contouren des Objectes (Actinomycesdruse) bei Anwendung der Immersion in der scharf eingestellten Ebene präciser geworden wären, so lag es doch in diesem Falle daran, eine möglichst grosse „Tiefenzeichnung" zu erhalten; und diese ist bekanntlich um so grösser, je grösser die Brennweite des Objectivs ist.

Hervorgehoben sei noch, dass an keinem einzigen Bilde ein Strich oder ein Punkt Retouche angebracht worden ist. Man wird deshalb auch an manchen Bildern einzelne Fleckchen finden, die der Geübte ohne Weiteres als zufällige Verunreinigungen, Plattenfehler etc. erkennt. Diese sind leider nicht immer zu vermeiden. Ich habe sie aber ohne Ausnahme stehen lassen, um meinen Photogrammen keine Spur ihrer Objectivität zu rauben.

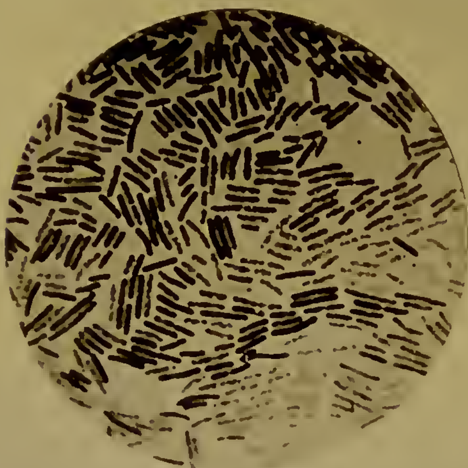
Der Verfasser.



1. Bakteriengemisch aus der Mundhöhle. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



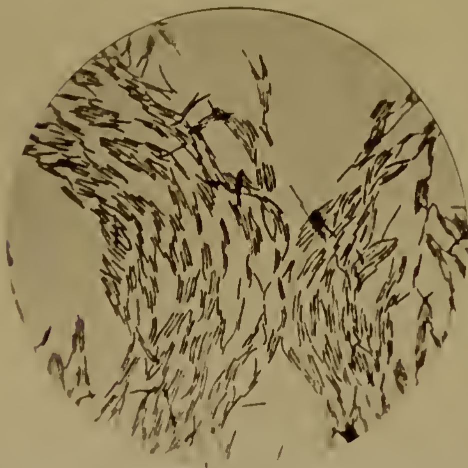
2. Bakteriengemisch in faulendem Fleischwasser. Deckglastrockenpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



3. Grosse Bacillen aus Wasser. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Methylenblau. 1000 : 1.



4. Grosse Bacillen (»Wurzelbacillus«) aus Erde. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



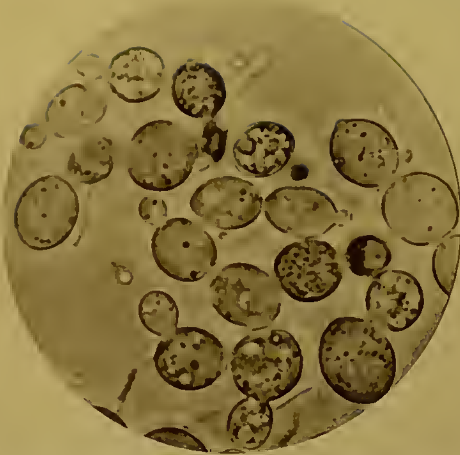
5. Schmale Bacillen aus Wasser. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



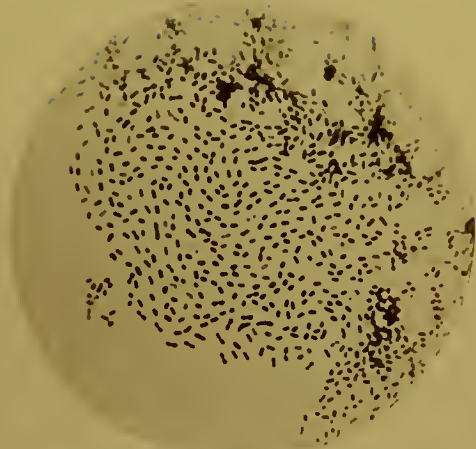
6. Oidium lactis (Fadenpilz). Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

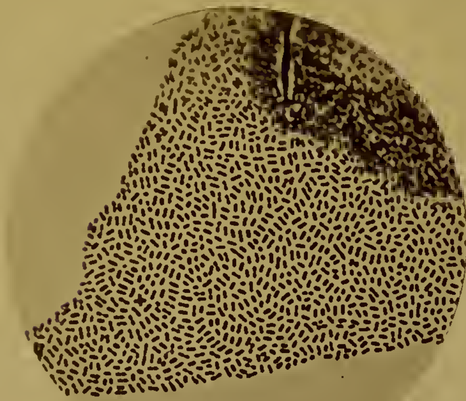
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



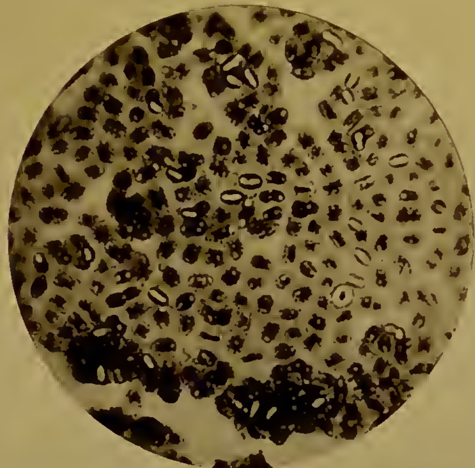
7. Hefe (Sprosspilz) aus Weissbier. Ohne Zusatz lebend photographirt. 1000 : 1.



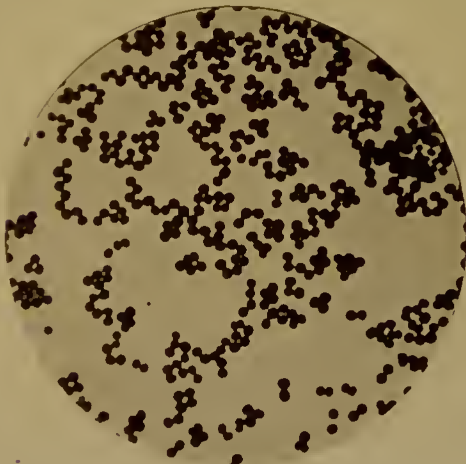
8. Bacillus prodigiosus. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



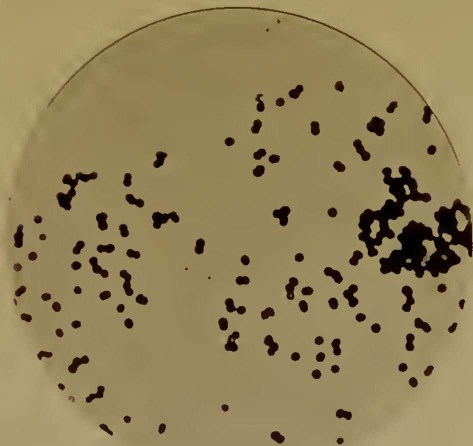
9. Kurze Bacillen (Kurzstäbchen) aus Milch. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



10. Bacillen-Zoogloea aus faulendem Pflanzeninfus. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



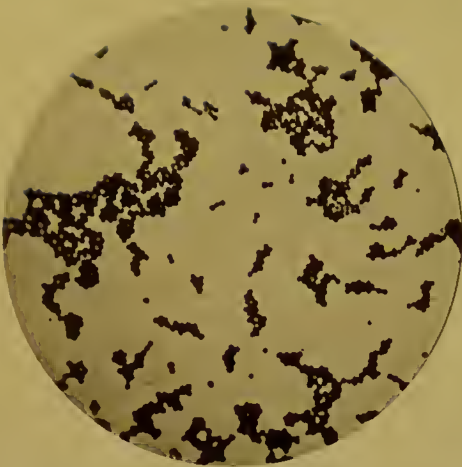
11. Grosse Mikrococcen aus Luft. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



12. Grosse Mikrococcen aus Faeces. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



13. Staphylococcus pyogenes aureus. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



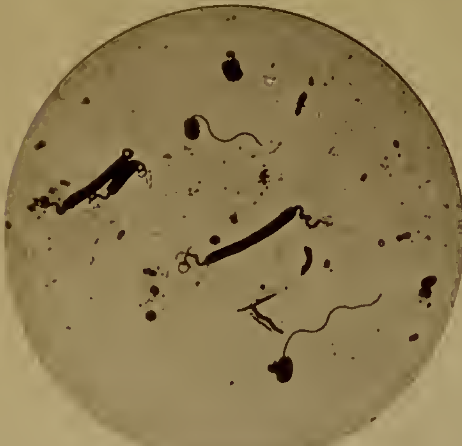
14. Streptococcus pyogenes in phlegmonösem Eiter. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



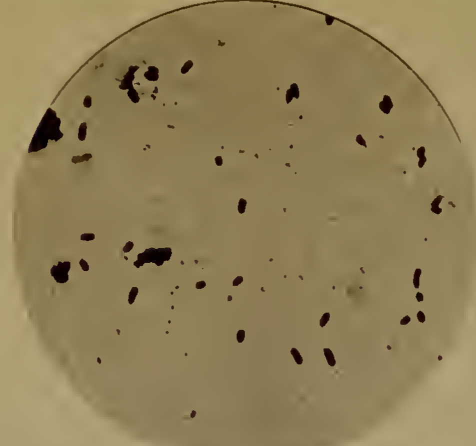
15. Gelbgrüne Sarcine aus Luft. Gelatinecultur. Deckglastrockenpräparat, ungefärbt in Wasser eingeschlossen. 1000 : 1.



16. Bakteriengemisch (Spirillum Undula und Bacillen mit Geisseln) aus faulendem Strohinfus. Deckglastrockenpräparat, ungefärbt in Luft eingeschlossen. 1000 : 1.



17. Bacillen mit Geisselbüscheln aus faulendem Strohinfus. Deckglastrockenpräparat. Gebeizt mit Ferrotannatfuchsin, gefärbt mit Fuchsin. 1000 : 1.



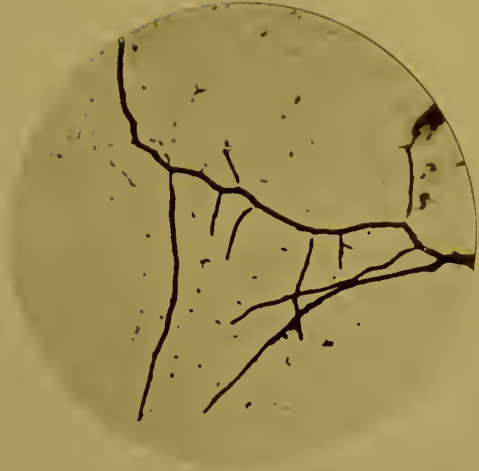
18. Kurze Bacillen aus Wasser mit Geisseln Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Präparation wie bei Fig. 17. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

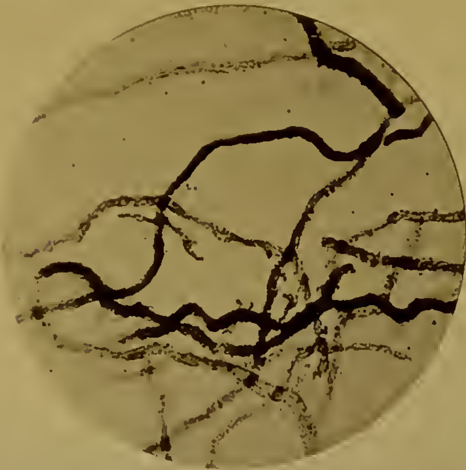
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



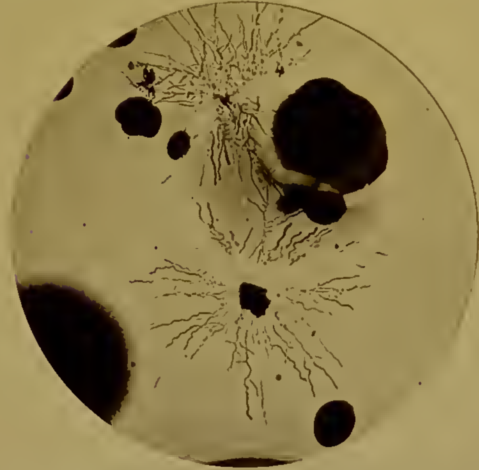
19. Eine Leptothrix-Art aus cariöser Zahnhöhle mit Sporen. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



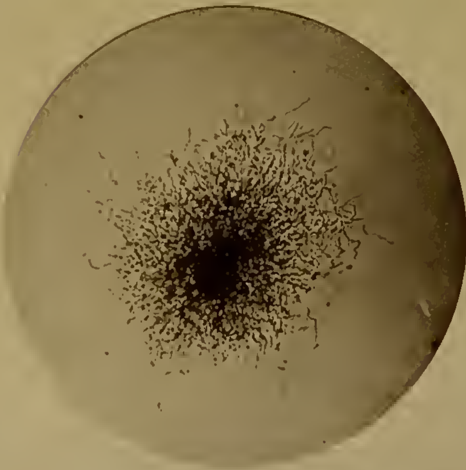
20. Cladothrix aus Wasser. Gelatinecultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



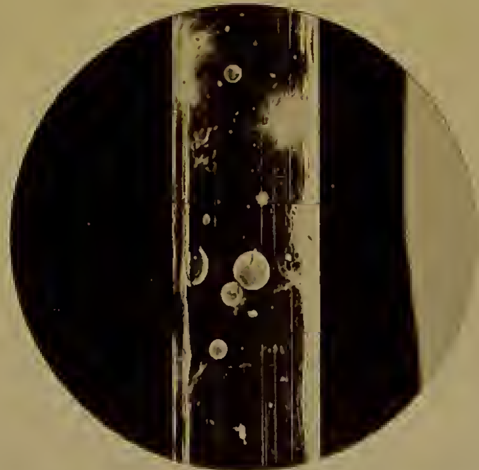
21. Crenothrix aus Wasser. Lebend, in Wasser eingeschlossen, photographirt. 250 : 1.



22. Gelatineplattencultur, mit Heustaub angelegt. Nach 2 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 25 : 1.



23. Cladothrix aus Wasser. Gelatineplattencolonie, 24 Stunden alt. 100 : 1.



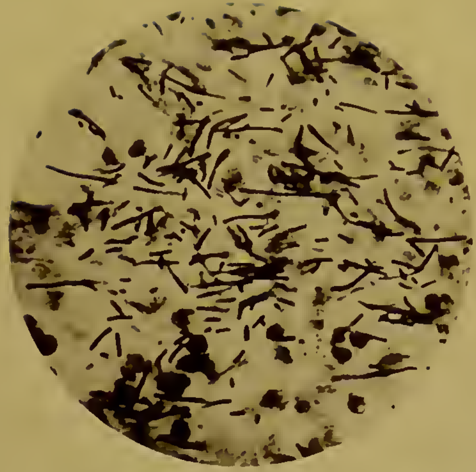
24. Gelatine-Rollröhrchen-Cultur, mit Gartenerde angelegt. Nach 2 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

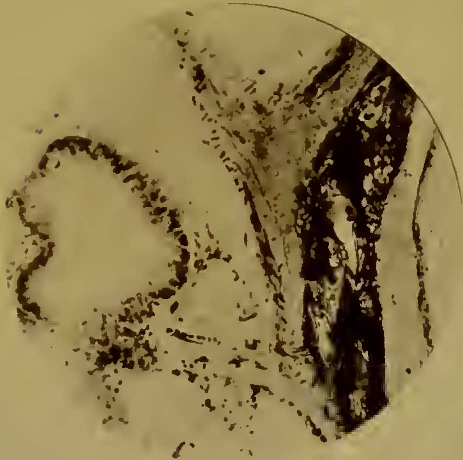
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



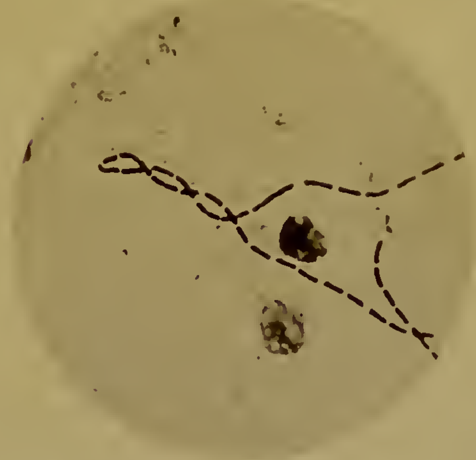
25. Milzbrand. Maus. Milz. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



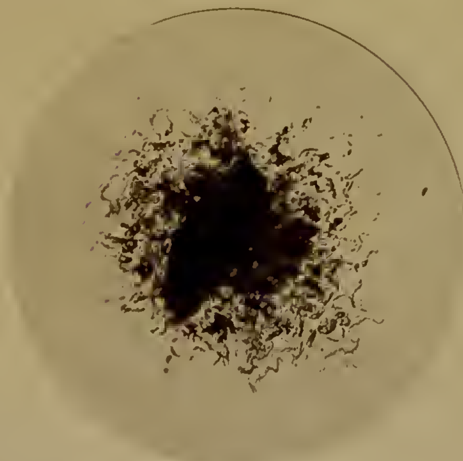
26. Milzbrand. Maus. Milz. Schnitt. Die Kerne mit Picrocarmin, die Bacillen nach Gram-Günther gefärbt. 500 : 1.



27. Milzbrand. Maus. Lunge. Schnitt. Methylenblau. 150 : 1.



28. Abgeschwächter Milzbrand. Maus. Milz. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



29. Milzbrandbacillen. Gelatineplattencolonie, 3 Tage alt. 43 : 1.



30. Milzbrandbacillen. Gelatineplatten-Oberflächen-Strichcultur, 48 Stunden alt. 40 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893. Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



31. Milzbrandbacillen. Klatschpräparat von der in Fig. 30 (Taf. V) dargestellten Plattencultur. Fuchsin. 1000 : 1.



32. Milzbrandbacillen. Involutionsformen. Kartoffelcultur. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



33. Milzbrandbacillen. Gelatinestichcultur nach 7 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



34. Milzbrandbacillenfäden mit Sporen. Hängender Gelatinetropfen. 500 : 1.



35. Milzbrandbacillenfäden mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



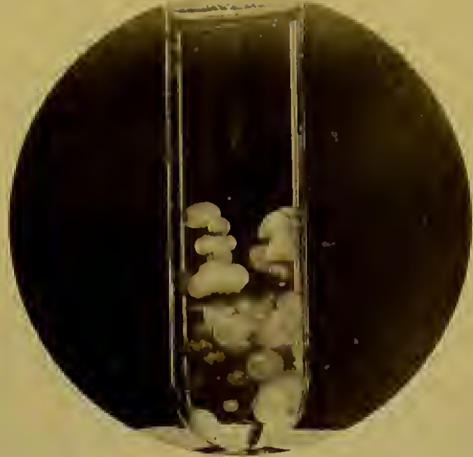
36. Bacillus subtilis (Heubacillus) mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Die Sporen mit Fuchsin, die übrige Bacillensubstanz mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



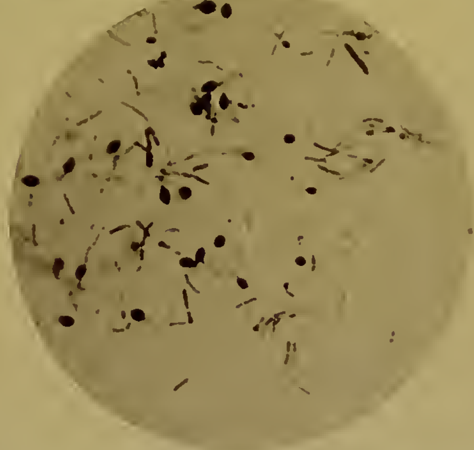
37. Bacillus des malignen Oedems. Meerschweinchen. Oedemflüssigkeit. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



38. Bacillen des malignen Oedems. Colonien im Innern von Traubenzuckergelatine, 44 Stunden nach Vertheilung von Oedemsaft der Maus in dem Nährboden. 1 : 1.



39. Tetanusbacillus mit Sporen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



40. Bacillen mit endständigen Sporen aus faulendem Fleischwasser. Deckglastrockenpräparat. Die Sporen mit Fuchsin, das Übrige mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



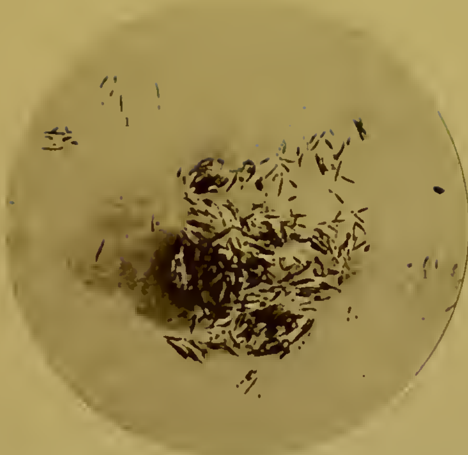
41. Tuberkelbacillen in phthisischem Sputum. Deckglastrockenpräparat. Die Tuberkelbacillen mit Fuchsin, das Übrige mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



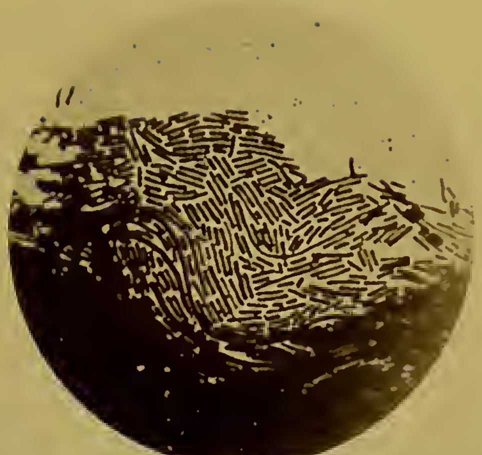
42. Tuberkelbacillen. Mensch. Tuberculöse Meningitis. Schnitt durch die Pia. Gentianaviolett. 500 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1890.

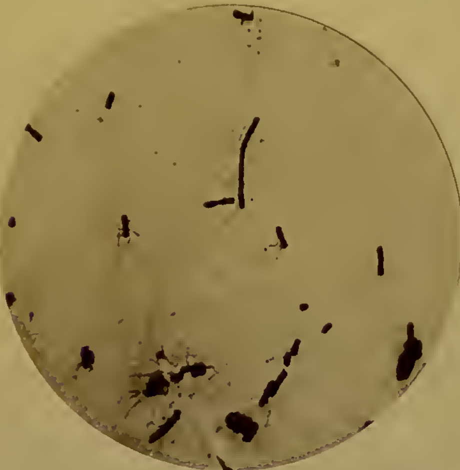
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



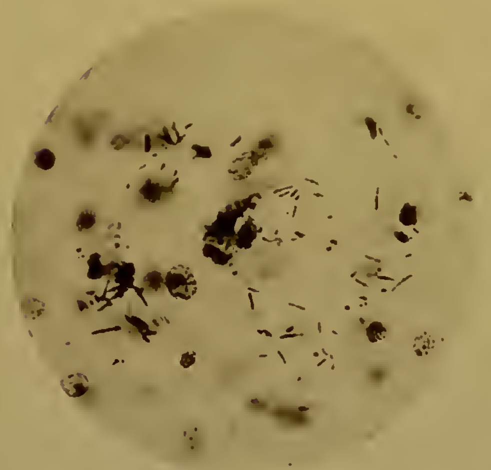
43. Leprabacillen. Mensch. Hautknoten. Deckglasausstrichpräparat. Die Leprabacillen mit Fuchsin, das Übrige mit Methylenblau gefärbt. 1000 : 1.



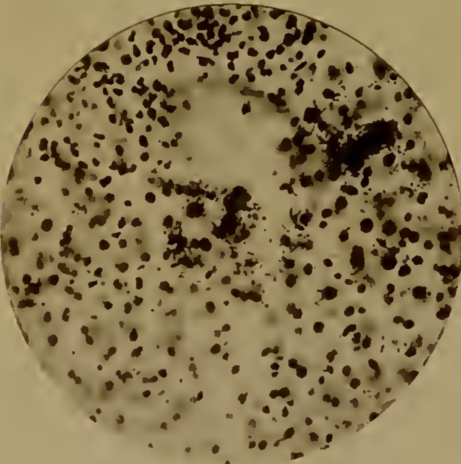
44. Typhusbacillen. Klatschpräparat von Gelatineplatte. Fuchsin. 1000 : 1.



45. Typhusbacillen mit Geisseln. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Gebeizt mit Ferrotannatfuchsin, gefärbt mit Gentianaviolett. 1000 : 1.



46. Typhusbacillen. Mensch. Leber. Schnitt. Fuchsin. Theil eines Bacillenherdes, der in Fig. 47 im Ganzen dargestellt ist. 500 : 1.

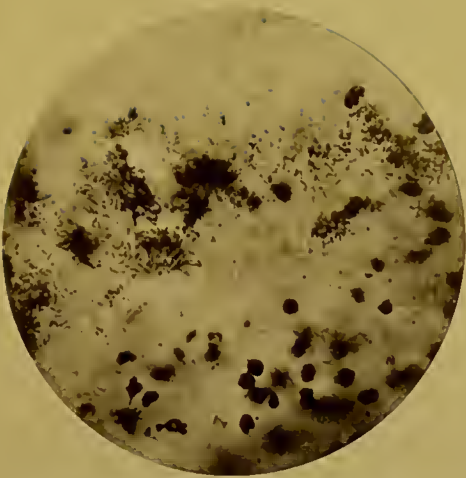


47. Typhusbacillen. Mensch. Leber. Schnitt. Fuchsin. 200 : 1 (Vergl. Fig. 46.)

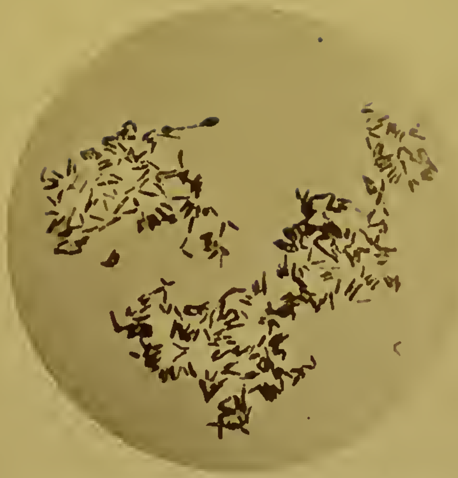


48. Typhusbacillen. Gelatine-Oberflächen-Strichcultur nach 3 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.

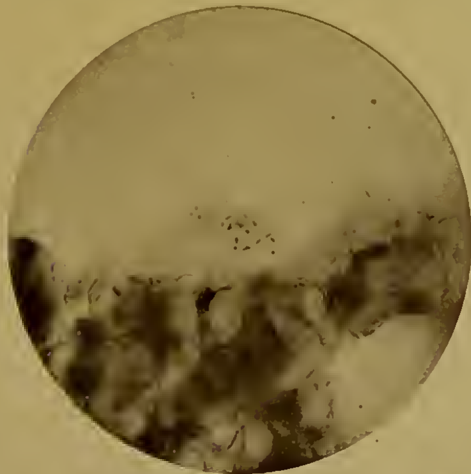
Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893. Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



49. Diphtheriebacillen. Mensch. Diphtherische Pseudomembran. Schnitt. Methylenblau. 500:1.



50. Diphtheriebacillen. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000:1.



51. Rotzbacillen. Feldmaus. Lunge. Schnitt. Methylenblau. 500:1.



52. Hühnercholerabacillen. Taube. Herzblut. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000:1.



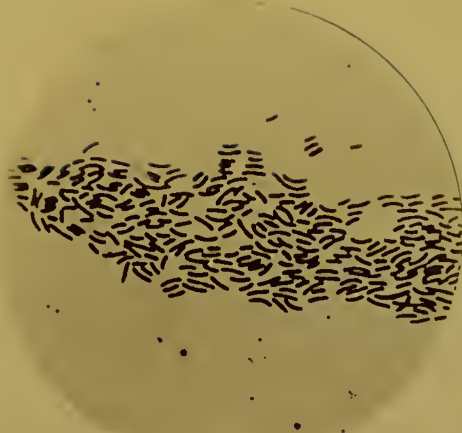
53. Mäusesepticaemiebacillen. Maus. Herzblut. Deckglasausstrichpräparat. Gram'sche Färbung. 1000:1.



54. Mäusesepticaemiebacillen. Gelatinestichcultur nach 6 tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1:1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

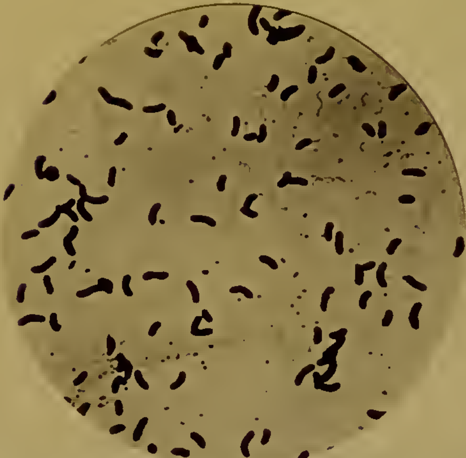
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



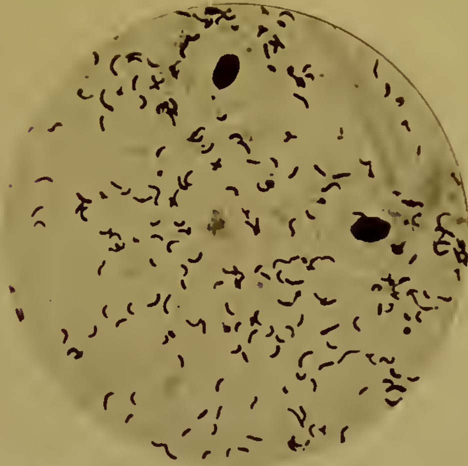
55. Cholerabacillen. Gelatineplatte. Klatschpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



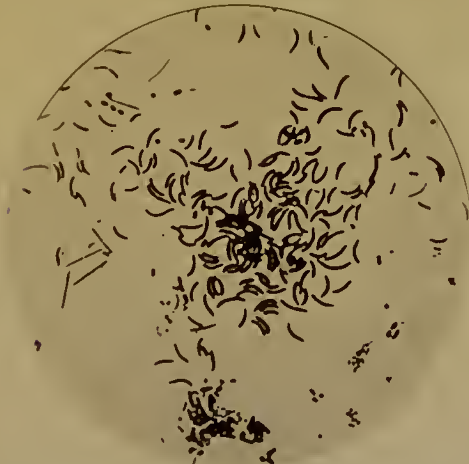
56. Cholerabacillen. Involutionsformen. Gelatinecultur. Deckglasausstrichpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



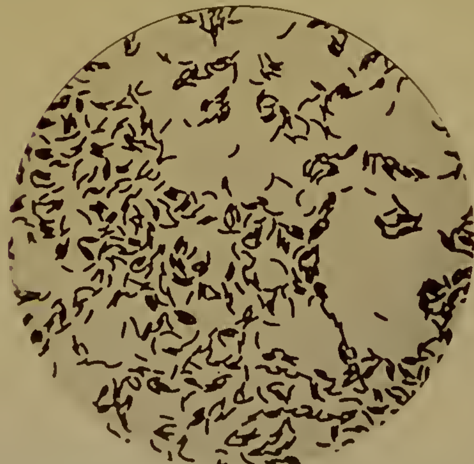
57. Cholerabacillen mit Geisseln. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Gebeizt mit Ferrotannatfuchsin, gefärbt mit alkalischem Anilinfuchsin. 1000 : 1.



58. Vibrio Metschnikoff. Taube. Muskelsaft von der Infectionsstelle. Deckglasausstrichpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.



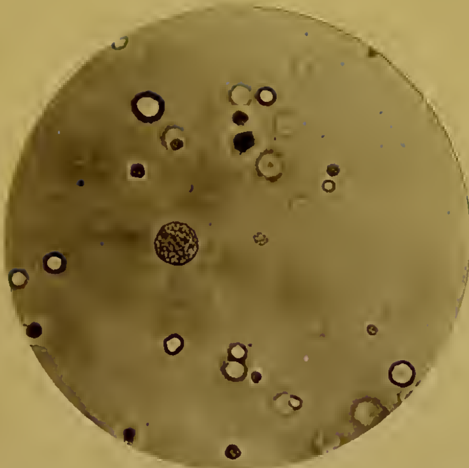
59. Kommabacillen (Spirillum sputigenum) aus der Mundhöhle. Deckglastrockenpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



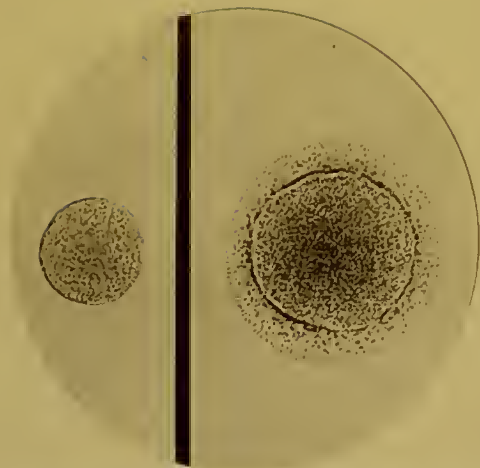
60. Kommabacillen (Vibrio aquatilis) aus Wasser. Agarcultur. Deckglastrockenpräparat. Fuchsin. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt. Leipzig.



61. Cholerabacillen-Colonien auf der Gelatineplatte nach 30stündigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 100 : 1.



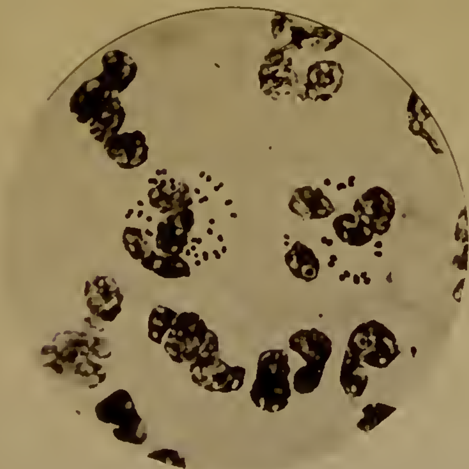
62. Cholerabacillen. Links eine Gelatineplattencolonie nach 48stündigem, rechts eine solche nach 72stündigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. Beide 100 : 1.



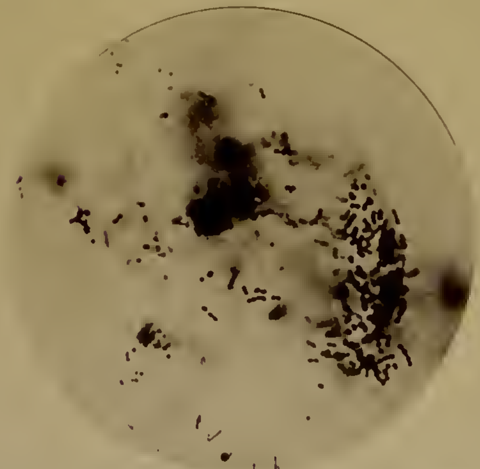
63. Cholerabacillen. Gelatinestichcultur nach 9tägigem Wachsthum bei Zimmertemperatur. 1 : 1.



64. Finkler-Prior'sche Kommabacillen. Unter denselben Bedingungen wie die Cultur Fig. 63 gezüchtet. 1 : 1.



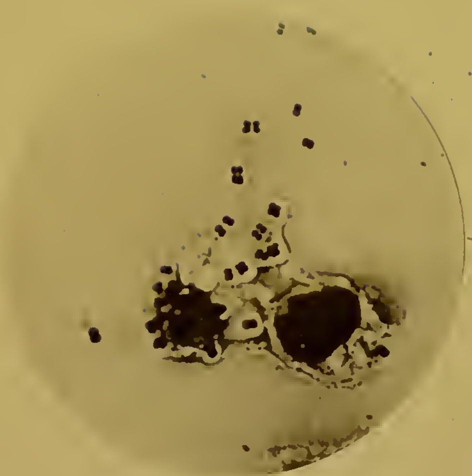
65. Gonorrhoecoccen. Trippereiter. Deckglasausstrichpräparat. Methylenblau. 1000 : 1.



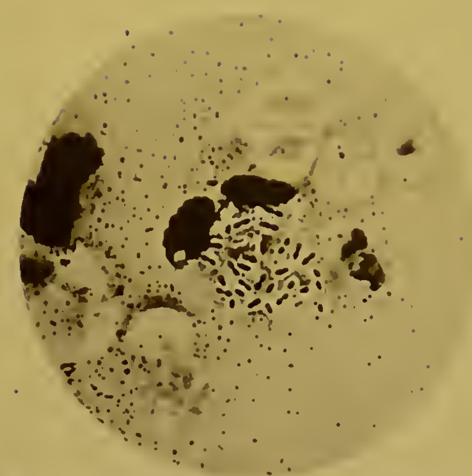
66. Erysipelstreptococcen. Mensch. Hautschnitt. Die Kerne mit Picrocarmin, die Coccen nach Gram-Günther gefärbt. 1000 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

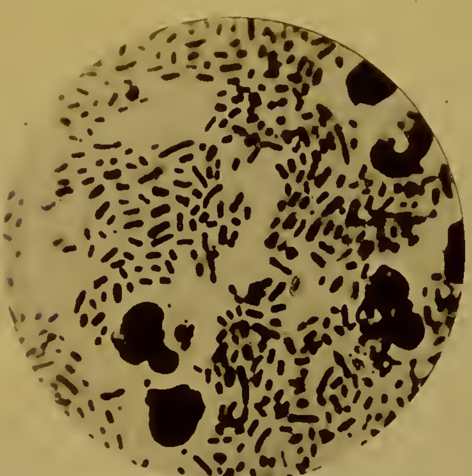
Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.



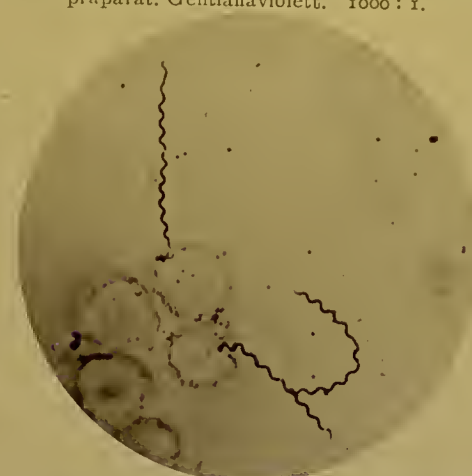
67. Micrococcus tetragenus. Maus. Milz. Deckglasausstrichpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



68. Diplococcus pneumoniae. Durch Punktion mit der Pravaz'schen Spritze entnommener Lungensaft vom lebenden Pneumoniker. Deckglasausstrichpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



69. Bacillus pneumoniae mit Kapseln. Pleurasaft der intrapleural inficirten Maus. Deckglasausstrichpräparat. Gentianaviolett. 1000 : 1.



70. Recurrensspirillen. Mensch. Blut. Deckglasausstrichpräparat. Mit 5 % iger Essigsäurelösung abgewaschen uud mit Fuchsin gefärbt. 1000 : 1.



71. Actinomyces bovis. Druse. Rind. Zungengeschwulst. Schnitt. Färbung nach Gram-Günther. 500 : 1.



72. Herpes tonsurans-Pilz. Agarplattencultur. Mit Deckglas bedeckt und direct photographirt. 240 : 1.

Dr. Carl Günther phot. Berlin 1893.

Lichtdruck von Julius Klinkhardt, Leipzig.

